



**Centre d'Angers - Institut National
d'Horticulture et de Paysage**

2, rue André Le Nôtre
49045 ANGERS Cedex 01
Tél : 02 41 22 54 54



**Centre de coopération
Internationale en Recherche
Agronomique pour le
Développement**

Avenue Agropolis
34000 MONTPELLIER
Tél : 04 67 61 58 00



**Pôle de Recherche Agro-
environnementale de la
Martinique**

Petit-Morne - BP 214
97285 LE LAMENTIN cedex 2
Tél : 0596 42 30 00

Mémoire de Fin d'Etudes

**Diplôme d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des
Sciences Agronomiques, Agroalimentaires,
Horticoles et du Paysage**

Spécialité : Horticulture

Option : Santé du végétal et environnement

**Etude de l'éliciteur Stifénia® dans la résistance
systémique et la lutte alternative contre *Pratylenchus
coffae* sur bananiers et *Rotylenchulus reniformis* sur
ananas**

Par : Soline PICARD

Soutenu à Angers, le : 20 septembre 2010

JURY

Maître de stage : Marie-Noëlle DUCAMP-COLLIN (CIRAD, Montpellier)

Alain SOLER (PRAM-CIRAD, Martinique)

Tuteur : Philippe ROBERT

Enseignant responsable de l'option : Stéphane POUSSIER

Autres membres du jury : Damien PICARD (Université d'Angers)

Emmanuel PAJOT (Valinov, Angers)

Invité : Lucien Delpech (SOFT, Port-la-Nouvelle)

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	5
LISTE DES ABREVIATIONS	6
LISTE DES ANNEXES	7
LISTE DES FIGURES	8
LISTE DES TABLEAUX	10
INTRODUCTION	11
I. Etude bibliographique : Intérêt de l'utilisation d'éliciteurs pour la résistance systémique induite contre les nématodes du bananier et de l'ananas	12
A. Contexte de l'étude : la culture de la banane et de l'ananas en Martinique et les problèmes de nématodes associés	12
1. La banane	12
a. Culture tropicale clef de l'économie mondiale	12
b. Eléments de génétique	12
c. La banane aux Antilles et en Martinique	12
d. Problèmes de nématodes sur les cultures de banane en Martinique	13
e. <i>Pratylenchus coffeae</i>	13
Distribution	13
Symptômes et dégâts	15
2. L'ananas	15
a. Deux variétés commercialement intéressantes	15
b. Une situation difficile pour l'ananas de Martinique	16
c. Problèmes de nématodes sur les cultures d'ananas en Martinique	17
d. <i>Rotylenchulus reniformis</i> Linford et Oliveira	18
Répartition géographique et plantes hôtes	18
Cycle de vie et mode d'infection	18
Symptômes et dégâts	20
3. Lutte contre les nématodes de l'ananas et du bananier	20
a. Lutte chimique	20
b. Luttés alternatives	20
c. Une volonté commune de réduire l'usage des pesticides	21
B. Résistance systémique	22
1. Résistance spécifique induite ou relation gène-pour-gène	24
La HR	24
2. Résistance non spécifique induite	26
a. La résistance locale acquise (RLA)	26
b. La résistance systémique acquise (SAR)	26

c.	La résistance systémique induite (ISR)	28
3.	Les réactions de défense	28
a.	Eliciteurs	28
	Stifénia®	29
	Les autres éliciteurs étudiés	30
b.	Evénements de signalisation précoces (figure 10)	31
c.	Les enzymes marqueurs étudiés	32
	PPOX (polyphénoloxydase)	32
	LOX (lipoxygénase)	32
	POD (peroxydases)	34
	APX (ascorbate peroxydase)	34
	CAT (catalases)	34
	SOD (superoxyde dismutase)	34
	GST (glutathion S-transférase)	34
	PAL (phénylalanine ammonia-lyase)	34
II.	Matériels et méthodes	36
A.	Objectifs	36
B.	Matériel végétal	37
C.	Mise en évidence de la systémie de la résistance après élicitation par le Stifénia® chez le bananier : essai « split-root »	37
1.	Plan d'expérimentation	37
2.	Elicitation des plants de bananiers	37
3.	Récolte des racines de bananiers	38
4.	Extraits enzymatiques bruts des racines de bananiers	39
5.	Mesure des activités enzymatiques	39
a.	Dosage de l'activité des polyphénoloxydases (PPOX)	39
b.	Dosage de l'activité des peroxydases (POD)	40
c.	Dosage de l'activité de l'ascorbate peroxydase (APX)	41
d.	Dosage de l'activité de la catalase (CAT)	41
e.	Dosage de l'activité de la lipoxygénase (LOX)	41
f.	Dosage de l'activité de la phénylalanine ammonia-lyase (PAL)	41
g.	Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD)	42
h.	Dosage de la glutathion S-transférase (GST)	42
D.	Impact des traitements des racines au Stifénia® sur les populations de nématodes, la croissance et la teneur en chlorophylle de l'ananas et du bananier : essai « serre »	43
1.	Plan d'expérimentation	43
2.	Elicitation des plants de bananiers et d'ananas	43
3.	Récolte des racines pour analyses enzymatiques des racines de bananiers et	

d'ananas traités	44
4. Inoculations de nématodes chez les plants d'ananas et de bananier préalablement traités	44
5. Estimation de la population en nématodes chez les bananiers et ananas traités	46
a. Estimation de la population en <i>Pratylenchus coffeae</i> au niveau des racines de bananiers traités	46
b. Estimation de la population en <i>Rotylenchulus reniformis</i> au niveau de la gaine de terre des racines d'ananas traités	47
Extraction de <i>R. reniformis</i> sur gaine de terre des racines d'ananas traités	47
Extraction par centrifugation-flottaison	47
6. Effets du Stifénia® sur la croissance et la teneur en chlorophylle des jeunes bananiers et jeunes ananas	48
E. Traitements statistiques	48
III. Résultats et Discussion	50
A. Essai « split-root » : mise en évidence de la systémie de la résistance après élicitation par le Stifénia® chez le bananier	50
B. Essai « serre »	51
1. Impact des traitements des racines au Stifénia® sur les activités enzymatiques des racines d'ananas et de bananier	51
a. chez les bananiers 'Cavendish 902'	51
a. chez l'ananas	54
2. Impact des traitements des racines au Stifénia® sur les populations de nématodes de l'ananas et du bananier	54
a. Chez le bananier : inoculations avec <i>Pratylenchus coffeae</i>	54
b. Chez l'ananas : inoculations avec <i>Rotylenchulus reniformis</i>	56
3. Impact des traitements des racines au Stifénia® sur la croissance et la teneur en chlorophylle de l'ananas et du bananier	58
a. Chez le bananier	58
b. Chez l'ananas	58
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	62
ANNEXES	72

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier

Mme Marie-Noëlle Ducamp-Collin (ingénieur-chercheur de l'UMR Qualisud du CIRAD de Montpellier) de m'avoir engagé en tant que stagiaire au sein du CIRAD,

Mr Alain Soler (chercheur responsable du laboratoire biochimie du CIRAD de Martinique) de m'avoir accueillie au sein de son équipe pour mener à bien ce projet,

Mr Paul-Alex Marie-Alphonsine (technicien supérieur en agronomie) pour son implication dans la mise en place et le suivi de l'expérimentation ainsi que pour ses conseils précieux sur le terrain,

Melles Madlyn François-Haugrin et Karelle Romuald (assistantes ingénieures) pour leur implication dans la logistique du laboratoire, leur aide et leur disponibilité,

Melles Claudine Corbion et Laryssa Saulia, stagiaires de Mr Soler, pour leur aide et leur bonne humeur

Merci à Fabrice Vinatier (thésard au PRAM) pour son aide dans l'exploitation des analyses statistiques.

Grand merci à toute l'équipe nématologie dirigée par Mr Patrick Quénéhervé qui nous a aidé à réaliser la partie nématologie de l'étude : Serge Marie-Luce, Jules Hubervic, Christiane Mauriol-Bastol et Virginie Barrière.

Je tiens également à remercier mes parents qui ont supportés mon absence pendant ces six mois de stage de fin d'étude et mon compagnon de vie qui lui m'a soutenu pendant cette période de travail.

LISTE DES ABREVIATIONS

A : absorbance
APX : ascorbate peroxydase
Avr : gène d'avirulence de l'agent pathogène
CAT : catalase
CDNB : 1-chloro-2,4-dinitrobenzène
CIRAD : Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement
DO : densité optique
DETAPAC : acide diéthylènetriamine-pentaacétique
GSH : glutathion réduit
GST : glutathione S-transférase
HR : réaction hypersensible
ISR : résistance systémique induite
Lam : traitement à la laminarine
LOX : lipoxigénase
MeJa : traitement au méthyle jasmonate
NBT : nitrobleu de tétrazolium
P : traitement au *Pontoscolex corethrurus*
PAL : phénylalanine-ammonia-lyase
PAMPs : pathogen-associated molecular patterns
PGPR : plant growth promoting rhizobacteria
PMMA : cuve polyméthylméthacrylate
POD : peroxydase
PPOX : polyphénoloxydase
PR : pathogenesis-related
PRAM : pôle de recherche agro-environnemental de la Martinique
PVPP : polyvinylPolypyrrolidone
R : gène de résistance de la plante
RLA : résistance locale acquise
ROS : reactiv oxygen species (formes actives de l'oxygène)
S : traitement au Stifénia®
SA : traitement à l'acide salicylique
SAR : résistance systémique acquise
SDN : Stimulateur des défenses naturelles
SOD : superoxyde dismutase
SOFT : société occitane de fabrication de technologies
T- : traitement au témoin eau
Tr : traitement au *Trichoderma harzianum*
UV : ultra-violet

LISTE DES ANNEXES

Annexe I : Classification des principaux cultivars de bananiers parthénocarpiques

Annexe II : Principales productions alimentaires végétales de la Martinique en 2008

Annexe III : Distribution de *Pratylenchus goodeyi* et *P. coffeae* à travers le monde

Annexe IV : Production d'ananas (t), surface récoltée (ha) et rendement ($t \cdot ha^{-1}$) par pays (2001)

Annexe V : Nématicides homologués en France

Annexe VI : Plan de la serre pour l'essai « serre »

Annexe VII : Protocole d'extraction de nématodes par aspersion (Chambre à brouillard)

Annexe VIII : Protocole d'extraction de nématodes sur gaine de terre (ananas)

Annexe IX : Protocole d'extraction de nématodes d'un échantillon de racines par centrifugation-flottaison

Annexe X : Etude statistique

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Morphologie des nématodes du genre *Pratylenchus*

Figure 2 : Photos représentant le nématode réniforme *Rotylenchulus reniformis*

Figure 3 : Morphologie des nématodes du genre *Rotylenchulus*

Figure 4 : Les trois types de résistance acquise chez les plantes

Figure 5 : La résistance chez les plantes

Figure 6 : Réaction hypersensible au virus de la mosaïque du tabac (VMT) chez le tabac porteur du gène *N* de résistance

Figure 7 : Théorie gène-pour-gène selon Flor

Figure 8 : Les voies de signalisations empruntées par les molécules signales impliquées dans la SAR et l'ISR

Figure 9 : Comparaison schématique des deux formes les plus étudiées de réponse systémique, conduisant toutes deux à des réponses phénotypique identiques

Figure 10 : Schéma simplifié des réactions enzymatiques étudiées et de certains événements cellulaires induits lors de l'ISR et de la SAR.

Figure 11 : Taxonomie des variétés d'ananas et de bananier utilisées pour l'étude

Figure 12 : Installation du système « split-root »

Figure 13 : Récolte des racines de bananiers 'Cavendish 902' en système « split-root »

Figure 14 : Ananas 'MD2' et 'Cayenne lisse' et bananiers 'Cavendish 902' en culture sous serre

Figure 15 : Chronologie de l'essai « serre »

Figure 16 : Inoculation des nématodes *Pratylenchus coffeae* sur bananier en serre

Figure 17 : Chambre à brouillard

Figure 18 : Etapes du protocole d'extraction de *R. reniformis* sur gaine de terre de racines d'ananas

Figure 19 : Etapes du protocole d'extraction par centrifugation-flottaison

Figure 20 : Activités enzymatiques de la PPOX, de la LOX, de l'APX et de la SOD chez le bananier 'Cavendish 902' (partie racinaire non traitée) : essai « split root »

Figure 21 : Moyennes des activités enzymatiques de la LOX chez le bananier 'Cavendish 902' (racines traitées) : essai « serre »

Figure 22 : Activités enzymatiques de la PPOX, de la PAL et de la GST chez les variétés d'ananas 'MD2' et 'Cayenne lisse' (racines traitées) : essai « serre »

Figure 23 : Effet du traitement sur la quantité finale de *P. coffeae* par rapport au T- chez les bananiers 'Cavendish 902' (racines traitées) : essai « serre »

Figure 24 : Effet du traitement sur la quantité finale de *R. reniformis* par rapport au T- chez les ananas des variétés 'MD2' et 'Cayenne lisse' (racines traitées) : essai « serre »

Figure 25 : Mesures des indicateurs de croissance et des teneurs en chlorophylle chez le bananier 'Cavendish 902' suite aux traitements stimulateurs de défense naturelle (racines traitées) : essai « serre »

Figure 26 : Mesures des indicateurs de croissance et des teneurs en chlorophylle chez les variétés d'ananas 'MD2' et 'Cayenne lisse' suite aux traitements stimulateurs de défense naturelle (racines traitées) : essai « serre »

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Caractéristiques des variétés d'ananas 'Cayenne lisse' et 'MD2'

Tableau 2 : Présentation des différentes espèces du genre *Rotylenchus*

Tableau 3 : Classifications existantes pour caractériser les différents types d'éliciteurs

Tableau 4 : Sélection d'éliciteurs spécifiques ou généraux décrit dans les réactions de défense des plantes

Tableau 5 : Description des traitements effectués sur les racines de bananier de la partie traitée du système « split root »

Tableau 6 : mode opératoire des dosages enzymatiques

Tableau 7 : Description des traitements effectués sur les racines de bananier et d'ananas dans l'essai « serre »

Tableau 8 : Présentation et classification des 2 espèces de nématodes étudiées

Tableau 9 : Facteurs et variables étudiés pour chaque expérimentation

Tableau 10 : Résumé des résultats statistiques concernant les analyses enzymatiques « split-root » bananiers 'Cavendish 902'

Tableau 11 : Résumé des résultats statistiques concernant les analyses enzymatiques des racines de bananiers 'Cavendish 902' directement traitées : essai « serre »

Tableau 12 : Infestation moyenne finale par les nématodes *P. coffeae* chez les bananiers 'Cavendish 902' (racines traitées) : essai « serre »

Tableau 13 : Infestation moyenne finale par les nématodes *R. reniformis* chez les ananas des variétés 'MD2' et 'Cayenne lisse' (racines traitées) : essai « serre »

Tableau 14 : Résumé des résultats statistiques concernant les mesures de croissance et de teneurs en chlorophylle

INTRODUCTION

Les cultures tropicales jouent un rôle essentiel dans l'économie locale de la Martinique. Malheureusement, les nématodes sont à l'origine de lourds dégâts sur de nombreuses cultures tropicales à travers le monde. La banane, première production agricole de la Martinique, et l'ananas sont tous deux menacés par les populations de ces parasites telluriques. L'utilisation de nématicides constituait jusqu'à ce jour la principale méthode de lutte pratiquée par les producteurs, mais ces produits sont dangereux pour la santé humaine et l'environnement. Le bromure de méthyle a par exemple été retiré du marché dans les pays industrialisés en 2005 pour son implication dans l'altération de la couche d'ozone.

La stimulation des défenses naturelles (SDN) des végétaux constitue une alternative potentielle à l'utilisation des nématicides en bananeraie et en culture d'ananas. La SDN est déclenchée par l'application d'éliciteurs capables d'induire la résistance systémique des plantes. Cette forme de résistance est une réponse mise en place par la plante après reconnaissance du produit éliciteur. Ce *priming* confère à la plante une sorte d'immunisation à une attaque ultérieure et sa capacité défensive est alors augmentée.

Nous allons étudier l'intérêt de l'utilisation du Stifénia® (produit SDN homologué contre oïdium sur vigne) pour la lutte contre les nématodes de l'ananas (*Rotylenchulus reniformis*) et de la banane (*Pratylenchus coffeae*) en Martinique.

Une première partie bibliographique exposera le contexte de l'étude et l'état des connaissances actuelles sur la résistance systémique des plantes.

La suite du document présentera deux essais :

- les effets du Stifénia® sur les activités biologiques d'enzymes impliqués dans les mécanismes de résistance de la plante seront comparés à d'autres traitements éliciteurs sur des bananiers de la variété 'Cavendish 902'. Ces bananiers seront mis en culture dans un système de double pot : une partie des racines subit le traitement et l'autre est récoltée pour les analyses enzymatiques. Cette méthode permet de mettre en évidence la mise en place de la résistance systémique.

- le Stifénia® sera également évalué sur sa capacité à réduire une population de nématodes inoculée après élicitation de plants de deux variétés d'ananas ('MD2' et 'Cayenne lisse') et de la variété de banane 'Cavendish 902'. Il sera comparé à un témoin traité à l'eau ainsi qu'à d'autres traitements éliciteurs.

Dans ce même essai des analyses enzymatiques seront également effectuées afin de comparer les activités biologiques d'enzymes (exprimés par les plantes lors de stress) suite au traitement au Stifénia® et aux autres éliciteurs.

Enfin, la croissance et la teneur en chlorophylle des plants de bananiers et d'ananas traités avec du Stifénia® seront comparés aux autres traitements ainsi qu'au témoin traité à l'eau.

I. Etude bibliographique : Intérêt de l'utilisation d'éliciteurs pour la résistance systémique induite contre les nématodes du bananier et de l'ananas

A. Contexte de l'étude : la culture de la banane et de l'ananas en Martinique et les problèmes de nématodes associés

1. La banane

a. Culture tropicale clef de l'économie mondiale

La banane est un produit de base essentiel pour les pays en développement. Elle est à la fois à la base de l'alimentation humaine et constitue également un important produit d'exportation. Environ un cinquième des bananes produites à travers le monde est exporté des pays en développement vers les pays développés [1]. A ce titre, ce produit est un bon exemple de commerce sud/nord unidirectionnel. Au niveau des systèmes de production, les plantations bananières de grande échelle, principalement orientées vers les marchés d'exportation, coexistent avec celles des petits planteurs [1].

La banane est maintenant la troisième culture fruitière tropicale mondiale avec 15% de la production exportée et 85% consommée sur place dans les pays les plus pauvres d'Afrique, d'Amérique centrale et d'Asie [2]. La production mondiale de la banane dessert est estimée à 89 millions de tonnes en 2008 et est cultivée sur 4,8 millions d'hectares à travers la planète [3]. La banane est, après le café, le deuxième fruit exotique le plus exporté à travers le monde et se place au quatrième rang des produits alimentaires les plus consommés au monde [4].

b. Eléments de génétique

Appartenant à l'ordre des *Zingiberales*, à la famille des *Musaceae* et au genre *Musa*, la banane demeure le fruit le plus populaire au monde. Parmi les *Musa*, la section des *Eumusa* comprend 10 à 12 espèces dont deux principales : *Musa acuminata* et *Musa balbisiana*. *M. acuminata* est à l'origine de tous les bananiers à fruits parthénocarpiques, seul ou avec la participation de *M. balbisiana*. Les variétés à fruits charnus et sans graines sont au nombre de 1200 environ et le groupe triploïde AAA comprend la quasi-totalité des cultivars à fruits destinés à l'exportation [5] (annexe I).

Le sous-groupe *Cavendish* est la forme la plus produite pour l'exportation, et comprend plus de 30 cultivars [5]. La production de banane dessert pour l'export (17 millions de tonnes) repose alors largement sur la pratique d'une monoculture intensive, pérennisée par l'emploi de volumes importants d'intrants chimiques [2].

c. La banane aux Antilles et en Martinique

Née en Asie du Sud-est, quelques milliers d'années avant notre ère, la banane a été introduite aux Caraïbes au XVIème siècle, depuis l'Afrique, par les espagnols. D'abord appelée

«platano», elle sera rebaptisée « banano » à St Domingue où le père Tomas de Berlanga apporte les premiers plants en 1516 [6].

La culture de la banane joue aujourd'hui un rôle essentiel dans l'économie martiniquaise et représente la première production agricole de l'île (annexe II [3]). La production annuelle de 300 000 tonnes [3] représente aujourd'hui 40% de la valeur totale des exportations de l'île [4] (70% des exportations agricoles) et emploie 15 % des actifs (soit la quasi-totalité de l'emploi rural). La filière banane génère à elle seule 14 000 emplois [4] et sa culture couvre quasiment 20% de la surface de la Martinique (19 000 ha en 2008 [3]). Les exportations de bananes martiniquaises sont en augmentation et atteignent les 180 000 tonnes en 2009 [7]. Au 01^{er} janvier 2007, on dénombre 528 exploitations regroupées au sein de 2 organisations de producteurs [4].

d. Problèmes de nématodes sur les cultures de banane en Martinique

Comme toutes les plantes cultivées, le bananier doit faire face à de multiples menaces parasitaires. Ces contraintes parasitaires peuvent être exercées par des agents pathogènes de diverses origines. Dans le cas de la production bananière, les menaces importantes sont le fait de champignons (*Colletotrichum musae*, *Mycosphaerella fijiensis*, *Mycosphaerella musicola* et *Fusarium oxysporum* var. *cubense*), de nématodes (*Radopholus similis*, *Pratylenchus coffeae*), des bactéries (certaines lignées pathogènes de *Pseudomonas solanacearum*) ou du charançon (*Cosmopolifes sordidu*).

Les nématodes phytoparasites altèrent le système racinaire et affectent la croissance et le développement des plantes attaquées. Dans la plupart des régions du monde, les nématodes sont à l'origine de dégâts extrêmement importants et aujourd'hui, ils sont responsables de dégâts estimés à plusieurs dizaines de milliards d'euros par an dans le monde [8].

S'attaquant aux tissus des racines et/ou des souches, les nématodes affectent la croissance des plants et les rendements en réduisant les fonctions mécaniques (ancrage) et physiologiques (absorption et transport de l'eau et des éléments nutritifs) du système racinaire. Les nématodes parasites des plantes possèdent, à la partie antérieure du tube digestif, un stylet perforant suivi d'un canal œsophagien aboutissant à un bulbe musculeux, pompe aspirante et refoulante. Une fois la plante perforée par le stylet, des enzymes digestives produites par les glandes salivaires sont injectées par cette pompe, laquelle, ensuite, aspire le produit de la digestion et le déverse dans l'intestin.

La principale espèce sur bananier en Martinique est *Radopholus similis*. Cette espèce ne pose plus de problèmes majeurs pour la culture de la banane en Martinique : l'utilisation de vitroplants est la méthode qui permet de s'affranchir des contaminations. Le nématode *Pratylenchus coffeae* pose lui encore beaucoup de problèmes sanitaires dans les bananeraies et l'emploi de vitroplants ne permet pas de s'affranchir des contaminations par ce nématode.

e. *Pratylenchus coffeae* (figure 1)

Distribution

Pratylenchus coffeae est un déprédateur majeur du genre *Musa*. Il est originaire des îles Pacifiques et des pays limitrophes. Propagé par le matériel végétal commercial, on le trouve

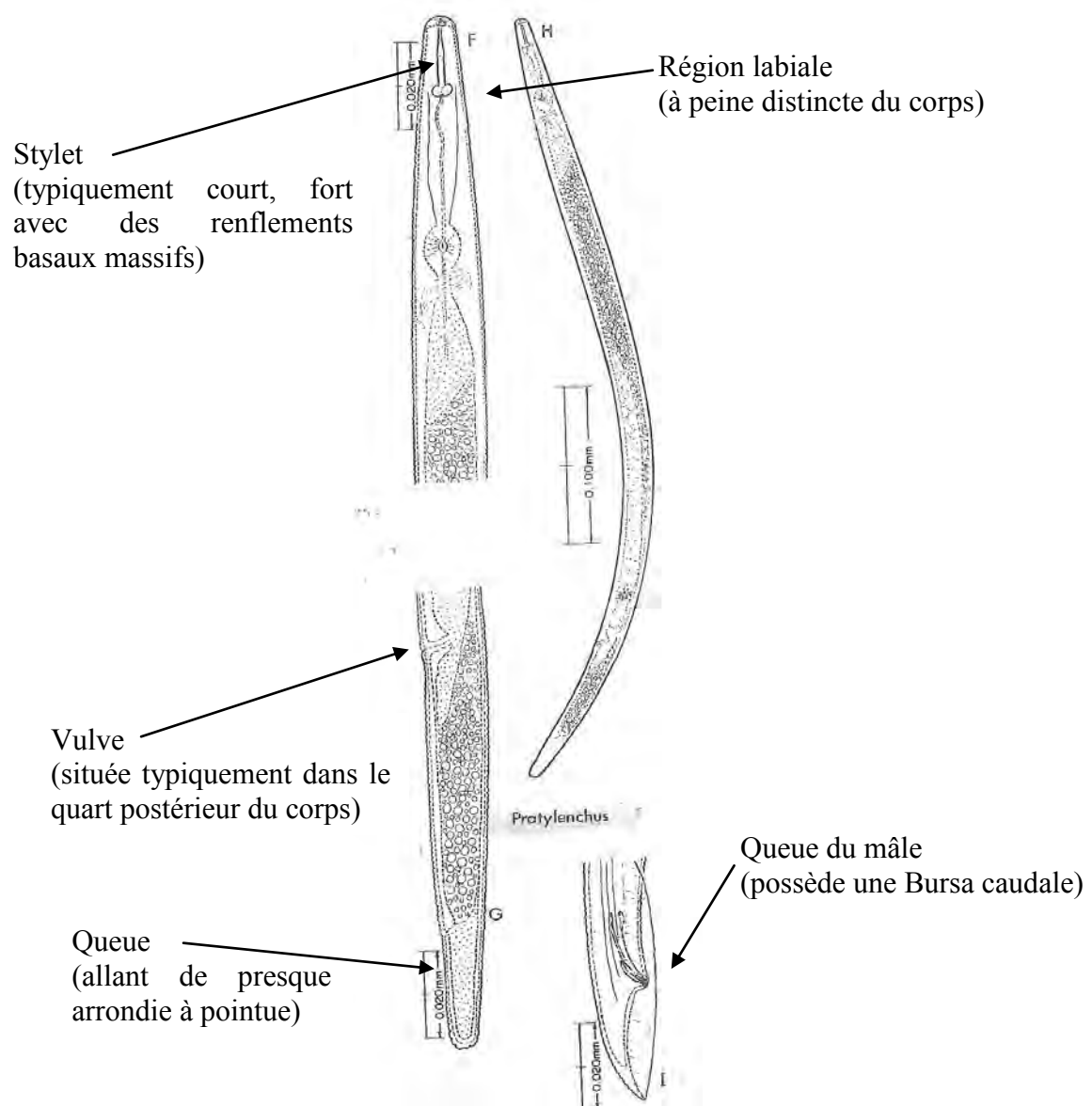


Figure 1 : Morphologie des nématodes du genre *Pratylenchus* d'après [9]. F. femelle, région antérieure G.femelle, région postérieure H. corps entier (0,4 à 0,8mm) I. mâle, région postérieure

aujourd'hui dans le monde entier (annexe III [10]). Cette espèce de nématode est particulièrement dévastatrice pour les cultivars de type *Cavendish* dans les pays d'Amérique centrale et du sud. *P. coffeae* possède une gamme d'hôte très diversifiée et peut être très nuisible à d'autres plantes cultivées (igname, gingembre, curcuma, caféier, abaca) [10].

Symptômes et dégâts

Les *Pratylenchus* sont des endoparasites migrants du cortex racinaire et des rhizomes du bananier. Ils se nourrissent dans ces tissus et s'y multiplient. Tous les stades de développement envahissent les racines et rhizomes et les femelles y pondent leurs œufs.

Le cycle de *P. coffeae* dure moins de 30 jours à 25-30°C. Les symptômes sont caractérisés par de grandes nécroses noires/violacées sur tissus épidermiques et corticaux des racines et des rhizomes. *P. coffeae* ne pénètre pas dans le cylindre vasculaire de la racine qui reste normalement blanc. Ces attaques racinaires entraînent un rabougrissement des plantes dont le poids des régimes est inférieur à une plante non atteinte. On observe également un allongement du cycle de production voire même des chutes ou déracinement des bananiers (surtout sur des sols pauvres en éléments nutritifs) [10].

2. L'ananas

L'ananas appartient à la famille des Broméliacées, famille dans laquelle toutes les espèces sont originaires d'Amérique du Sud (zones centrales et sud du Brésil, nord de l'Argentine et Paraguay). L'origine du mot « ananas » viendrait des tribus Tupi-Guaranis (Paraguay) par la juxtaposition des termes « a » -fruit- et « nana » -savoureux [11].

Tous les ananas cultivés appartiennent au genre *Ananas* mais celui faisant l'objet d'une commercialisation en Europe appartient exclusivement à l'espèce *A. comosus*. Les types d'ananas les plus satisfaisants auraient gagnés progressivement l'Amérique péninsulaire et le chapelet des îles caraïbes grâce aux échanges entre tribus. Christophe Colomb et ses compagnons rencontrèrent pour la première fois l'ananas le 4 novembre 1493 en Guadeloupe [12]. La première description de la plante et de son fruit est attribuée à un envoyé du roi d'Espagne en 1535, date à laquelle remontraient les premières introductions en Europe. La dissémination de l'espèce dans le monde à partir du continent américain suivi de près l'ouverture des grandes voies maritimes par les Portugais, puis les Espagnols au cours du XVI^e siècle [13].

a. Deux variétés commercialement intéressantes (tableau 1)

Parmi les nombreux cultivars d'ananas exploités dans le monde, la variété 'Cayenne lisse' dont le fruit convient aussi bien pour la fabrication des tranches que pour l'exportation en frais est considéré globalement comme le plus « performant », ce qui explique qu'il soit le plus répandu dans le monde en plantation commerciale [11]. Pendant très longtemps, il a représenté pratiquement la seule variété exportée et mise en conserve [14]. Il pèse pour 70 % dans la production mondiale et, pour les produits de transformation, ce taux grimpe à 95 %. C'est en climat tropical qu'il exprime au mieux toutes ses potentialités quantitatives et qualitatives. De façon général, la plante est considérée comme exigeante et sensible à de nombreuses maladies, ce qui impose de lourds investissements, principalement là où le coût de la main d'œuvre est élevé [11].

L'hybride d'origine hawaïenne 'MD2' (également appelé 'Sweet') est aujourd'hui en

progression dans le marché du frais, essentiellement du fait de son extraordinaire aptitude à bien supporter mise au froid et transport. La robustesse du fruit après récolte était inconnue et ouvre de nouvelles perspectives dans le domaine de la création variétale par hybridation [14]. Tout comme le ‘Cayenne lisse’, la variété ‘MD2’ est aujourd’hui très cultivé en Martinique.

Tableau 1 : Caractéristiques des variétés d’ananas ‘Cayenne lisse’ et ‘MD2’ [14].

	MD2	Cayenne lisse
Caractère épineux	Demi-épineux	Epines d’extrémité
Couleur de la chair	Jaune	Jaune pâle
Poids sans couronne (g)	1300	1410
Hauteur sans couronne (mm)	143,4	148,2
Diamètre (mm)	115,7	120,7
Ratio sucre/acide	1,31-2,11	1,0-1,2
Gradient de maturité de bas en haut	Faible	Fort
Potentiel agronomique	Très bons rendements. Maturation plus rapide que le Cayenne lisse (-4 à -5 jours)	Très bons rendements
Sensibilité	Peu sensible aux tâches noires, très sensible au <i>Phytophthora</i> , moyennement sensible aux parasites telluriques	Sensible aux tâches noires, au <i>Phytophthora</i> et aux parasites telluriques
Potentiel de conservation	Bon, insensible au brunissement interne	Bon, sensible au brunissement interne

b. Une situation difficile pour l’ananas de Martinique

La production mondiale annuelle de 2008 de l’ananas est de 19 millions de tonnes avec environ 850 000 hectares cultivés [3]. Il représente la troisième production de fruit tropical mondial et 70% de la production mondiale est consommée dans les pays d’origine [15]. La production mondiale a plus que triplé entre les années 1961 et 2001 mais le commerce international est dominé par quelques entreprises multinationales qui ont développées des infrastructures puissantes pour produire et vendre l’ananas [15]. Les pays leader en termes de production d’ananas sont la Thaïlande, les Philippines et le Brésil (annexe IV [16]) mais il est cultivé dans la presque totalité des régions tropicales du monde.

L’ananas est la cinquième production agricole de la Martinique (annexe II [3]) avec 1100 tonnes produites en 2008 sur 65 hectares [17].

La culture d’ananas est présente essentiellement dans quatre communes du nord de la Martinique. Celles-ci, quoique offrant des conditions propices à l’agriculture, révèlent un certain nombre de handicaps : une topographie présentant des pentes bien marquées, une prédisposition à l’érosion des sols, un rallongement du cycle de production dû à l’altitude, une pénibilité du travail ainsi qu’un surcoût de main d’œuvre et de mécanisation. Ces facteurs concourent à une perte de revenus [18].

En matière d'exportation, l'agriculture en Martinique se caractérise par une concentration de la production autour de deux filières : la banane et la canne à sucre, qui couvrent les deux tiers de la surface arable totale. La filière ananas qui constituait la troisième filière d'exportation est quant à elle en forte régression [4] et la production ne cesse de décroître depuis dix ans. Elle ne concerne plus qu'une cinquantaine d'exploitations (350 emplois directs et 150 emplois induits). De 255 ha en 2004, la superficie est passée à 176 ha en 2006. Mais la superficie réellement en production est de seulement 93 ha [4]. La situation de la filière est donc extrêmement préoccupante d'autant plus que la seule usine de transformation et de fabrication de jus a disparu. Sur les 2 700 tonnes produites en 2006, à peine la moitié a pu être vendue, le reste étant perdu faute de débouchés. La production d'ananas en Martinique possède donc une faiblesse se manifestant par un échec de repositionnement stratégique [4]. Plusieurs actions sont aujourd'hui en cours afin de redynamiser la filière ananas de Martinique et le CIRAD (Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement) est largement engagé dans cette voie par ses activités de recherches concernant cette culture.

c. Problèmes de nématodes sur les cultures d'ananas en Martinique

Au niveau environnemental l'ananas est menacé par de nombreux ravageurs tels que les nématodes. En Martinique on retrouve huit espèces de nématodes (toutes cultures confondues): *Meloidogyne* sp., *Rotylenchulus reniformis*, *Pratylenchus* sp., *Helicotylenchus* sp., *Xiphinema* sp., *Hemicycliophora* sp., *Criconeoides* sp., *Aorolaimus* sp. [19]. La pression parasitaire pouvant être souvent forte, les nématodes, et notamment *Rotylenchulus reniformis*, sont un gros problème pour la culture de l'ananas [10].

Les nématodes réniformes sont des semi-endoparasites des racines et sont fréquemment rencontrés dans les régions tropicales, subtropicales et à climat chaud tempéré. Le terme « réniforme » provient de la forme en rein que prend le corps de la femelle mature après pénétration de sa partie antérieure dans la racine des plantes (caractère communs à toutes les espèces du genre *Rotylenchulus*) [20]. On compte à ce jour, dix espèces connues de *Rotylenchulus* (tableau 2).

Tableau 2 : Présentation des différentes espèces du genre *Rotylenchus* [24].

Espèces	Plantes hôtes	Localité	Auteurs
<i>R. anamictus</i> *	Acacia	Somalie	Dasgupta <i>et al.</i> , 1968
<i>R. brevitubulus</i> *	Inconnu	Afrique du Sud	Van den Berg, 1990
<i>R. borealis</i>	Maïs (<i>Zea mays</i> L.)	Pays-Bas	Loof, Oostenbrink, 1962
<i>R. Clavicaudatus</i>	<i>Strelitzia</i> et canne à sucre (<i>Saccharum officinarum</i> L.)	Afrique du Sud	Dasgupta <i>et al.</i> , 1968 ; Van den Berg, Spauli, 1981
<i>R. Leptus</i> *	Bambou (<i>Bambusa vulgaris</i> Schard. ex JC. Wendl.)	Zimbabwe	Dasgupta <i>et al.</i> , 1968
<i>R. macrodoratus</i>	Vigne (<i>Vitis vinifera</i> L.)	Italie	Dasgupta <i>et al.</i> , 1968
<i>R. macrosoma</i>	Olivier (<i>Olea europaea</i> L.)	Israël	Dasgupta <i>et al.</i> , 1968 ; Cohn, Mordechai, 1988
<i>R. parvus</i>	Canne à sucre (<i>S. officinarum</i>) et cotonnier (<i>Gossypium hirsutum</i> L.)	Californie (USA)	Williams, 1960 ; Dasgupta <i>et al.</i> , 1968
<i>R. reniformis</i>	Ananas [<i>Ananas comosus</i> (L.) Merrill]	Hawaï (USA)	Linford, Oliveira, 1940
<i>R. sacchari</i> *	Canne à sucre	Afrique du Sud	Van Den Berg, Spauli, 1981

* : Espèce à femelle mature non décrite.

d. *Rotylenchulus reniformis* Linford et Oliveira

Répartition géographique et plantes hôtes

Rotylenchulus reniformis présente une large distribution géographique résultante de son large spectre d'hôte et de sa facilité d'adaptation aux conditions environnementales les plus défavorables. Il peut, par exemple, ralentir ses phénomènes vitaux par une stratégie de survie appelée anhydrobiose qui lui permet de survivre au moins deux ans en l'absence d'hôte dans un sol desséché [21], [22].

R. reniformis est le nématode réniforme présentant le plus grand nombre de plantes hôtes [23], [24] mais la littérature concernant le spectre d'hôte est plus limitée que pour les nématodes à galles ou à kystes [25].

Cette espèce est surtout signalée à Hawaï et aux Antilles mais un grand nombre de populations (différents en dégâts causés et en cycle de reproduction) sévissent à travers le monde sur plus de 300 espèces et 77 familles (coton, soja, niébé, pois chiche, lentille) [25]. Il existe toutefois de nombreuses espèces de plante résistante (papaye, patate douce, poivre, pomme de terre, tabac, tomate) [25].

Cycle de vie et mode d'infection

R. reniformis est un ver microscopique de 0,34 à 0,52 mm de long dont la femelle parasite les racines des plantes hôtes [20]. La température optimale de mouvement et de reproduction est comprise entre 27 et 32 °C [26]. Le cycle de vie complet de *R. reniformis* est de 24 à 29 jours dans les conditions optimales [26]. Ce cycle de vie est assez simple et il se décompose en six stades [26]: un stade œuf, quatre stades larvaires et le stade adulte.

La larve de troisième stade pénètre dans la racine d'ananas où, après une dernière mue, elle se transforme en femelle. Seule la femelle se nourrit et donc est dommageable aux plantes [26]. Lors de l'invasion des racines, la partie antérieure de son corps pénètre l'épiderme et le parenchyme cortical par écartement des cellules, tandis que la partie postérieure reste à l'extérieur. C'est dans cette position qu'elle restera et se nourrira durant le reste du cycle. Grâce à des sécrétions œsophagiennes, elle suscite la différenciation chez l'hôte de cellules spécialisées indispensables à sa nutrition. Ces cellules forment un site trophique qui s'élargit au fil du temps en incorporant les cellules voisines [26]. Ce site trophique cellulaire intervient par sa dimension et son activité sur le développement et la fécondité de la femelle qui s'y nourrit. Parallèlement, la partie postérieure restée à l'extérieur de la racine grossit et prend une forme de rein qui se positionne perpendiculairement à l'axe de la racine (figures 2 et 3).

Environ 7 à 10 jours après la pénétration dans la racine, la femelle devient reproductive. Il s'ensuit la maturation des gonades femelles et peu après, les œufs produits sont fertilisés par le sperme préalablement stocké. La femelle commence alors à déposer les œufs (60 à 200) formés et fertilisés dans une matrice gélatineuse appelée oothèque [26]. Cette matrice provient de la vulve et est produite par les glandes vaginales [24]. Le mâle, non parasite, vit libre dans le sol. La reproduction est essentiellement sexuée, bien que ce soit très rare, elle peut être parthogénétique.

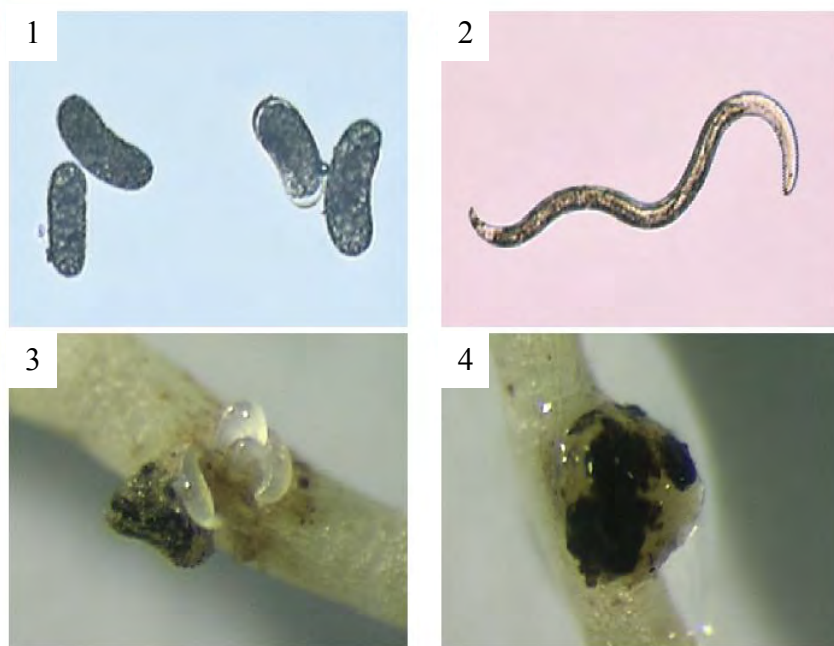


Figure 2 : Photos représentant le nématode réniforme *Rotylenchulus reniformis*. 1. œufs (X 200). 2. larve (X 200). 3. postérieur en forme de reins de trois femelles après leur pénétration dans une racine de cotonnier (X 40). 4. oothèque (X400) [20].

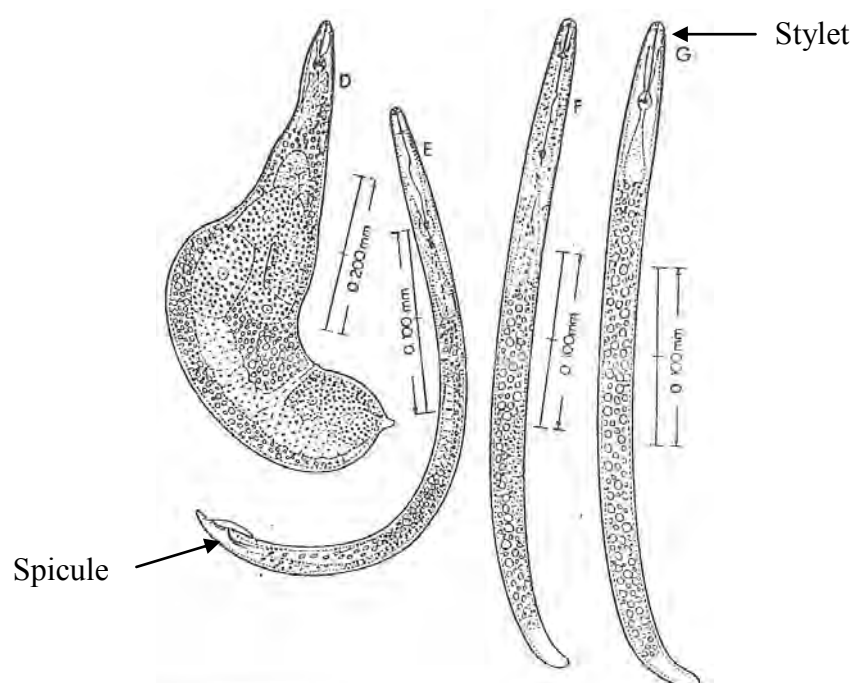


Figure 3 : Morphologie des nématodes du genre *Rotylenchulus* d'après [9] D. femelle, corps entier typiquement réniforme (0,6 à 0,9mm) E. mâle, corps entier (0,3 à 0,5mm) F. jeune femelle, corps entier (0,3 à 0,45mm) G. larve, corps entier (0,3 à 0,45mm)

Symptômes et dégâts

Dans l'ananas atteint d'une attaque de *Rotylenchulus reniformis*, il apparaît un affaiblissement général. Sur les feuilles, on observe un dessèchement de l'extrémité des limbes et une coloration jaune rosé à rouge [19]. Une réduction, puis une destruction ainsi qu'une asphyxie des racines et radicelles sont visibles [19]. Les racines présentent des lésions et des nodules [27] ainsi qu'une prolifération anormale de radicelles près des points de pénétration. Des toxines salivaires pourraient être responsables de la perte d'activité des racines qui cependant ne sont pas détruites. Une perte de vigueur de la plante s'ensuit et cela conduit inévitablement à une perte de rendement [28].

Au sein d'une parcelle, la répartition de *R. reniformis* est uniforme et les plantes sont rarement tuées. L'expression de la maladie (elle aussi uniforme) passe donc souvent inaperçue [29]. Les pertes de rendements dans un champ sont rarement supérieures à 25% [25].

3. Lutte contre les nématodes de l'ananas et du bananier

a. Lutte chimique

La lutte chimique consiste, soit à désinfecter les sols chaque année avant plantation avec des produits fumigants ou précurseurs de fumigants, dangereux pour l'homme et l'environnement, soit à traiter sur culture en place avec des produits systémiques, véhiculés par la sève (carbamates et organophosphorés) pour des productions non comestibles ou à récolte tardive [30]. Les nématicides favorisent l'installation de la culture en détruisant le nématode ou en retardant fortement le début des attaques [30].

Six substances actives sont aujourd'hui sur le marché pour la lutte contre les nématodes en traitement des sols en bananeraie (7 produits homologués) et 2 substances actives (3 produits homologués) pour les ananas de Martinique (annexe V [31]).

Les nématicides peuvent cependant être très polluants et dangereux pour l'environnement. Ils ont des spectres d'action très larges et perturbent les équilibres écologiques des milieux traités. De plus, il n'est pas toujours conseillé de renouveler leur application pour allonger la protection de la culture du fait de leur phytotoxicité ou de la toxicité de leurs résidus [30].

Le vide biologique créé par les applications de nématicides et les résidus qu'ils libèrent dans les milieux (sols, nappes phréatiques) ont amené certains pays à en restreindre l'emploi. Ces produits sont, en outre, coûteux et ne sont pas toujours efficaces. Par exemple, injectés à la surface du sol, leur efficacité est réduite sur les parasites localisés en profondeur [32].

Les résultats sont insuffisants : il faut répéter les traitements continuellement, ce qui entraîne également la sélection de résistances physiologiques des ravageurs à ces produits [30].

Les solutions de remplacement n'existent pas encore et devant cette situation, les recherches sur la lutte biologique connaissent un regain d'intérêt.

b. Luites alternatives

Dans les régions tropicales et tempérées chaudes, très favorables à leur développement, les nématodes constituent l'un des principaux ennemis des plantations et cultures de caféier, cotonnier, bananier, ananas, maïs, sorgho, etc., bases principales du développement de ces pays. En raison de leur extrême résistance, de leur grande variabilité physiologique et de leur vie souterraine, il est très difficile de combattre les nématodes [33].

Les alternatives non chimiques intègrent l'ensemble des pratiques culturales susceptibles de

réduire la pression en nématode telles que la rotation des cultures, l'amendement du sol, la jachère ou l'utilisation de variétés résistantes [34].

Les plantes non-hôtes des espèces de nématodes *R. reniformis* et *P. coffeae* peuvent théoriquement être utilisées en rotation comme moyen de gestion des nématodes. En pratique, on se heurte pour *R. reniformis* à un manque d'efficacité de ces mesures à cause du remarquable potentiel de survie de cette espèce même en l'absence de plante hôte [20]. De plus, l'utilisation de plante non-hôte n'empêche pas toujours le développement d'autres parasites pathogènes de la banane et de l'ananas.

La lutte contre les nématodes peut également se faire par biofumigation et l'incorporation dans le sol de certaines légumineuses tropicales (genre *Crotalaria*) a des effets nématostatiques sur plusieurs espèces de nématodes [35].

Le contrôle des nématodes peut être thermique (vapeur ou eau chaude) mais ces techniques détruisent en général l'ensemble de la vie du sol et sont très coûteuses [34]. L'inondation et la solarisation s'avèrent également être des solutions physiques efficaces dans la lutte contre les nématodes [34].

Des plantes transgéniques exprimant des inhibiteurs de protéinase ont montrés une résistance aux nématodes [36]. Certains antagonistes du sol tels que les bactéries et les champignons prédateurs peuvent être utilisés comme agents de lutte biologique contre les nématodes [37], [32], [26]. Ce type de pratique présente cependant la difficulté de maintenir un auxiliaire dans un sol qui ne lui convient pas toujours. Cette méthode de lutte est donc très loin d'être appliquée à grande échelle [20].

Concernant plus spécifiquement *R. reniformis*, l'élimination précoce des adventices pourrait participer au contrôle de la population [26] car plusieurs mauvaises herbes communes supportent une reproduction prolifique de ce nématode [38]. Un labour profond est également souvent préconisé pour permettre aux racines de pénétrer profondément dans le sol afin de compenser certains des effets inhibiteur de *R. reniformis* sur l'absorption d'eau et de nutriments [26].

Les principales méthodes de lutte contre *P. coffeae* consistent à pratiquer des rotations culturales et à appliquer des produits chimiques [39]. Or, pour l'instant les rotations culturales en bananeraie de Martinique sont limitées. Comme la gamme d'hôte est large (arachide, patates douces, graminées communes), il est difficile d'éliminer *P. coffeae* avant la plantation. Une jachère arbustive peut cependant réduire les populations de nématodes. Le parage des souches en enlevant les racines et les couches superficielles de tissus nécrosés est une pratique efficace qui permet de réduire l'inoculum. Une exposition de ces souches au soleil (2 semaines) diminue la population résiduelle puis un traitement à l'eau chaude (20 min à 53-55°C) peut entraîner l'éradication de la quasi-totalité des nématodes.

c. Une volonté commune de réduire l'usage des pesticides

Depuis la mise en évidence de la pollution causée par l'usage de pesticides contenant du chlordécone, les planteurs de banane martiniquais, avec l'appui des instituts de recherche, ont manifesté leur volonté de réduire sensiblement l'usage des pesticides [4]. En effet, les principales pressions qui s'exercent sur les cours d'eau proviennent en partie des activités agricoles, en particulier des bananeraies (utilisation de produits phytosanitaires et de fertilisants) [4].

Entre 1999 et 2007, la quantité de pesticides utilisée par les exploitations bananières est passée de 900 tonnes à 250 tonnes [4]. Des avancées techniques majeures sont à l'origine de ces résultats : le renouvellement des plantations par vitroplants associé à des jachères et à des

rotations culturales a assaini les plants et les surfaces cultivées. Des techniques de lutte intégrée ont par ailleurs été mises au point. Cette diminution importante a concerné notamment les nématicides mais aussi les insecticides qui eux ont pratiquement disparus du marché. A ces mesures visant à réduire l'utilisation des pesticides, l'interdiction d'usage de molécules et l'apparition de nouvelles molécules actives à de très faibles doses par hectare ont également contribué à cette baisse [4].

Les producteurs de bananes des Antilles, avec l'appui du CIRAD, proposent un « Plan d'action pour l'innovation dans la filière banane » sur les 5 prochaines années axé sur le développement de systèmes de culture qui tendent vers une diminution notable de l'utilisation des pesticides. A ce titre, une plate-forme de travail conçoit des systèmes de culture innovants sans remettre fondamentalement en cause le recours à des pesticides [4]. Il apparaît évident que les stratégies de protection des cultures devront être diverses.

Les moyens non chimiques utilisés pour la lutte contre les nématodes sont encore limités et la lutte chimique reste, pour des raisons essentiellement d'ordre économique et de facilité de mise en œuvre, la méthode la plus employée [33].

B. Résistance systémique

Les plantes sont continuellement exposées à un grand nombre de pathogènes potentiels. Elles ont donc développées des mécanismes de défense intrinsèques afin de reconnaître et de se défendre contre un large spectre d'agents pouvant engendrer des maladies.

La plante est protégée contre la plupart des tentatives d'invasion par des premières barrières constitutives physiques (cuticule, épines, stomates, paroi cellulaire) et chimiques (composés phénoliques antimicrobiens, lactones, saponines, huiles et composés organo-sulfurés) [40], [41]. On parle alors de résistance passive.

Lorsque l'agent pathogène déjoue les premières lignes de défense et que la plante le détecte, un système de résistance actif se met en place. L'objectif est de confiner l'agresseur dans les cellules attaquées (qui peuvent être sacrifiées pour assurer la survie de la plante). Cette interaction plante/pathogène provoque l'activation de plusieurs voies métaboliques afin de :

- renforcer les barrières externes (paroi) pour empêcher la pénétration de l'agent pathogène
- mettre en place des conditions toxiques pour le parasite.

Il existe différentes modalités de résistance (généralisée, spécifique) mais dans tous les cas les cellules végétales stimulées par une attaque réagissent par des signaux d'alerte intrinsèques qui activent alors les cellules pour mettre en place une stratégie défensive [41].

Il y a trois grands types de résistance ayant pour but commun de bloquer la progression de l'agresseur grâce à des interactions moléculaires continues (système récepteur-émetteur) (figures 4 et 5) :

- la résistance spécifique induite qui engendre une interaction gène-pour-gène et qui conduit à une réaction hypersensible (HR),
- la résistance locale acquise (RLA) qui est une forme de résistance généralisée (ne conduit pas obligatoirement à une HR)
- la résistance systémique acquise (SAR) dont la résistance systémique induite (ISR) est une modalité (stimulée spécifiquement par des rhizobactéries).

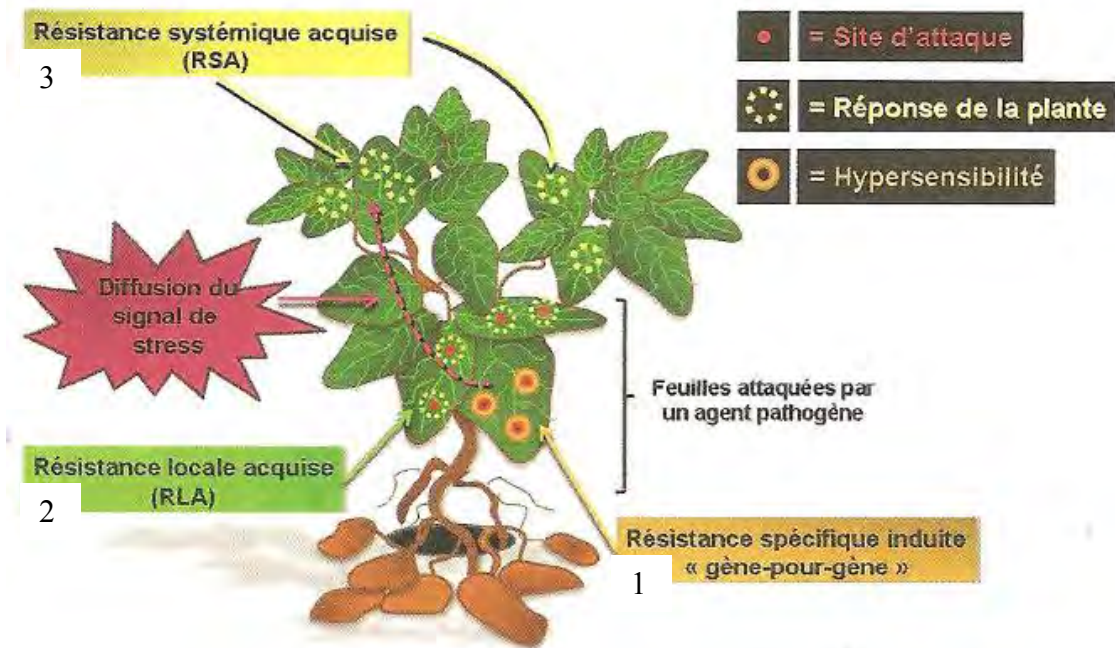


Figure 4 : Les trois types de résistance acquise chez les plantes d'après [41]: 1. Résistance spécifique induite. Résistance gène-pour-gène qui conduit à la mort cellulaire programmée (formation d'un halo nécrotique) 2. Résistance locale acquise (RLA). La résistance s'organise autour des cellules attaquées et se maintient à ce niveau 3. Résistance systémique acquise (SAR). La résistance s'organise autour des cellules attaquées et diffuse ensuite aux cellules avoisinantes qui reçoivent des signaux de stress.



Figure 5 : La résistance chez les plantes d'après [41]

1. Résistance spécifique induite ou relation gène-pour-gène

Chez les plantes, la résistance aux maladies la plus étudiée est spécifique d'un cultivar ou d'un groupe de plante (on parle de résistance hôte). Dans ce cas, l'interaction plante/pathogène implique la reconnaissance spécifique par une protéine de la plante d'une molécule produite par l'agresseur. Elle est souvent expliquée par la théorie « gène pour gène » découverte par Flor dans les années 50 [41] : des gènes de résistance (R) uniques dont les produits interagissent directement ou indirectement avec les éliciteurs spécifiques produits par les gènes d'avirulence (*Avr*) des agents pathogènes [42]. Cette théorie a, depuis, été largement validée par la génétique moléculaire moderne [41].

L'un des meilleurs moyens de contrôler les maladies des plantes a alors été le développement de variétés avec des gènes majeurs de la résistance (gènes de résistance verticale). Ce type de résistance peut être facilement piloté lors des programmes de sélection et est efficace jusqu'à ce que s'établissent de nouvelles souches de l'agent pathogène qui contournent la résistance de la plante. Le sélectionneur peut ensuite incorporer dans la variété un autre gène conférant la résistance de la plante à la nouvelle souche. Les sélectionneurs appliquent ainsi le principe de l'hypothèse gène-pour-gène. On assiste alors pour certaines cultures à la répétition à intervalles fréquents de ce schéma ; alors que parfois un seul gène confère la résistance adéquate pour plusieurs années [43].

On observe une interaction incompatible (plantes saines) chez les plantes résistantes [43]. Dans ce cas les deux protagonistes doivent posséder des gènes complémentaires (*R/Avr*). Les réponses incluent le phénomène d'hypersensibilité, l'augmentation de l'expression de gènes pathogenesis-related (PR), le phénomène de 'burst' oxydatif (formation de formes actives de l'oxygène ou ROS : reactiv oxygen species), des modifications de flux ioniques et des mécanismes de phosphorylation/dephosphorylation médiés par des protéines kinases [42], [41].

La HR

La HR a pour principale caractéristique de provoquer la mort rapide des cellules végétales entourant le site de pénétration de l'agent pathogène [44], [45]. Phénotypiquement, la mort programmée de ces cellules se manifeste par la formation de nécroses qui peuvent être localisées (petites taches concentriques) ou très étendue sur une grande surface de feuille (figure 6). La formation de nécrose contribue à confiner l'agent pathogène, empêchant ainsi sa dissémination dans les autres tissus et organes de la plante [46]. Plusieurs études ont montré que des molécules toxiques comme les phytoalexines (composés phénoliques induits) s'accumulaient dans les zones nécrotiques [47].

Les mécanismes sous-tendant la HR végétale incluent une dépolarisation membranaire associée à une production de ROS induites via l'induction d'enzymes oxydantes, les lipoxigénases (LOX) [48].

Une interaction compatible (plantes malades) entre les plantes sensibles ou partiellement résistantes et l'agent pathogène se produit lorsque l'un ou l'autre des gènes est absent ou altéré [41] (figure 7).

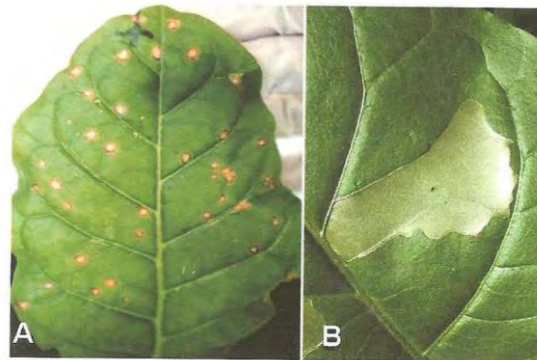


Figure 6 : Réaction hypersensible au virus de la mosaïque du tabac (VMT) chez le tabac porteur du gène *N de* résistance. A. Formation de tâches nécrotiques localisées. B. Formation d'une nécrose étendue [41].

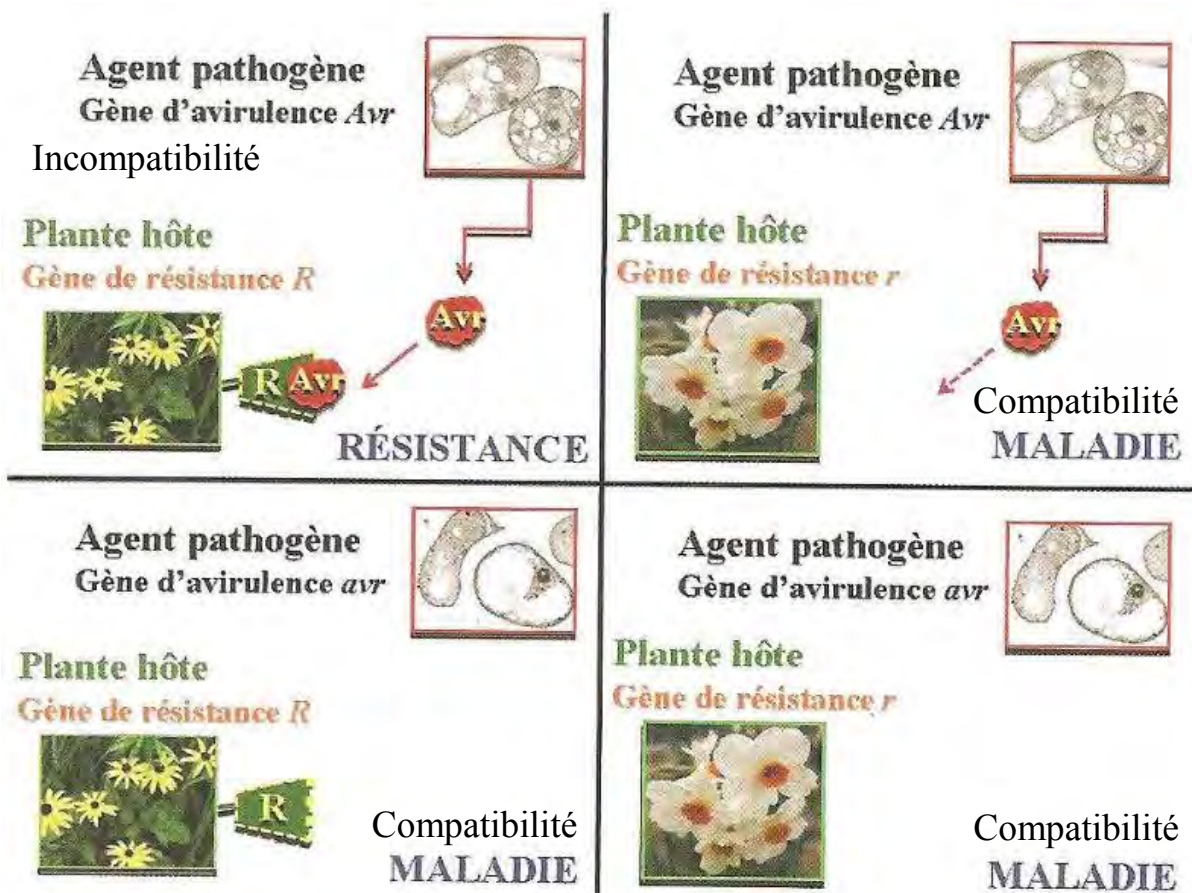


Figure 7 : Théorie gène-pour-gène selon Flor [41].

2. Résistance non spécifique induite

Toutes les plantes, même si elles ne possèdent pas un gène de résistance, ont la capacité de se défendre contre un agresseur. Dans tous les cas, la résistance d'une plante ne peut se manifester que suite à une infection préalable par un agent pathogène ou à un traitement avec un produit capable de mimer une situation de stress. On parle de résistance généralisée ou non spécifique car les stratégies de défense mises en place par la plante ne sont pas ciblées contre l'organisme déclencheur mais contre tout agresseur éventuel [49]. Les mécanismes de résistance activés ont deux objectifs : premièrement de limiter la progression de l'agresseur envahisseur au niveau du site d'agression (RLA) et ensuite d'alerter les cellules voisines en se propageant à distance (SAR). La SAR protège donc non-seulement la plante contre son agresseur initial mais la place en état de veille permanent. Elle répond alors plus rapidement à toute attaque provenant d'une large gamme d'autres agents pathogènes [41].

a. La résistance locale acquise (RLA)

La RLA s'exprime au niveau des sites de pénétration potentiels de l'agent pathogène, en marge de la réaction hypersensible. Ces zones sont activement stimulées par des signaux émis par les cellules en état de mort cellulaire [50]. Il s'y produit une synthèse et une accumulation de composés antimicrobiens [51] (dérivés phénoliques comme les phytoalexines [52]) ainsi qu'un renforcement des parois (incorporation de lignine, callose) [53].

b. La résistance systémique acquise (SAR)

La SAR ne reste pas confinée dans les parties infectées de la plante mais s'exprime dans les parties éloignées du site d'attaque [54]. Elle intervient dans les heures qui suivent l'infection et est caractérisée par une accumulation de molécules de défense : protéines de stress, phytoalexines, composés structuraux et inhibiteurs de protéases [41]. Ce type de résistance intervient suite à une cascade d'événements initiés par la détection du signal de stress. Si un des messagers secondaires manque, la plante ne met pas en place sa réaction de défense et la maladie progresse.

L'acide salicylique a un rôle de signal prépondérant dans la mise en place de la SAR. Suite à une attaque par un agent pathogène une accumulation de ce composé phénolique est constatée dans la plante [55]. Il est également capable d'induire la SAR, même en l'absence d'infection [56], [57]. La mobilité de l'acide salicylique dans la plante a été démontrée par marquage [58]. Ceci dit, à partir d'une certaine concentration, l'acide salicylique peut être toxique pour les cellules végétales.

La plante doit alors trouver un équilibre pour le niveau d'acide salicylique entre son rôle de signal et sa phytotoxicité. Pour le moment, le rôle exact de l'acide salicylique dans la transmission du signal de stress n'est pas complètement connu et il semble qu'il partage cette fonction biologique avec d'autres molécules (acide jasmonique, éthylène...). Les interactions (synergie/indépendance) entre les voies de signalisations ne sont pas encore totalement clarifiées [59].

La réponse de défense dépendant de l'éthylène et de l'acide jasmonique semble être activée par des agents pathogènes nécrotrophes alors que la réponse dépendante de l'acide salicylique est déclenchée par des agents pathogènes biotrophes [60]. Des études montrent également que les réponses « éthylène », « acide jasmonique » et « acide salicylique » s'inhibent entre elles. Les voies ne sont donc pas si distinctes et se recoupent, ce qui permet à la plante d'adapter la réponse au type d'agent pathogène [57], [61].

La SAR, induite par l'exposition des tissus racinaires ou foliaires à des éliciteurs biotiques ou abiotiques, est dépendante de l'hormone végétale acide salicylique et est associée à une accumulation de protéine PR (pathogenesis-related). L'ISR, induite par l'exposition à des souches spécifiques de PGPR, est dépendante des hormones végétales éthylène et acide jasmonique, indépendante de l'acide salicylique, et n'est pas associée à une accumulation de protéines PR. Cependant les deux réponses sont interconnectées (figures 8 et 9).

Pour toutes les voies de signalisation la SAR conduit à :

- un renforcement des parois cellulaires
- une production de métabolites antimicrobiennes (phytoalexines), protéines PR, et des enzymes oxydatives liées à la protection lors des stress.
- lignification
- HR : mort cellulaire programmée de la cellule au niveau du site d'infection

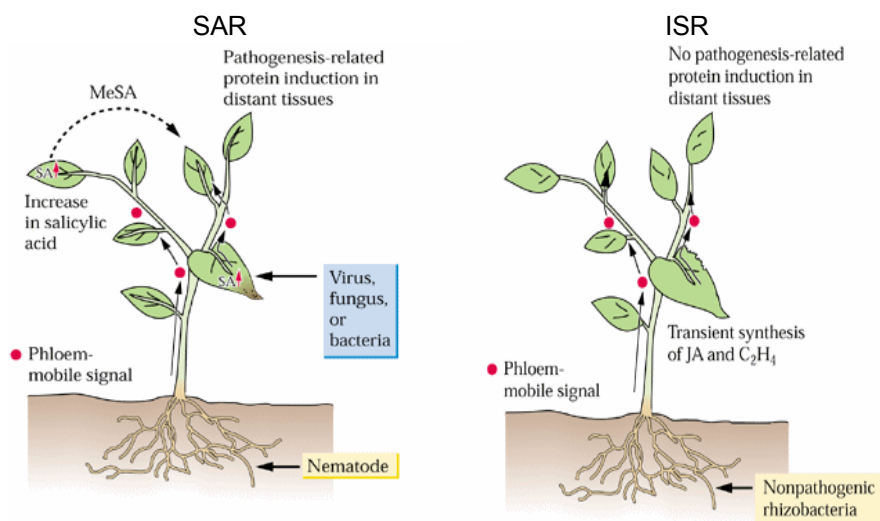


Figure 8 : Les voies de signalisations empruntées par les molécules signales impliquées dans la SAR et l'ISR [79].

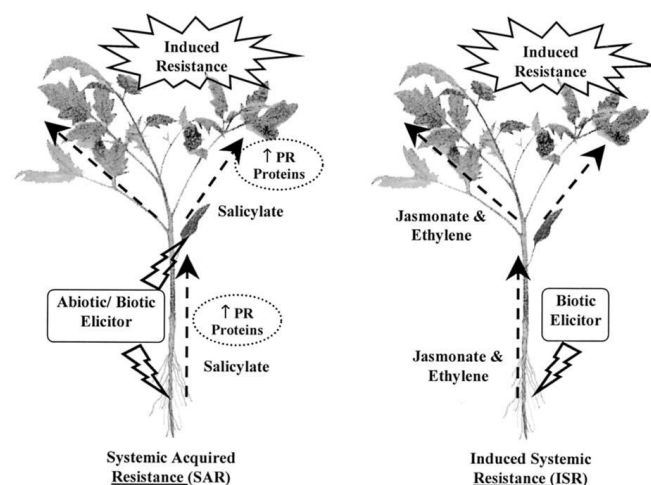


Figure 9 : Comparaison schématique des deux formes les plus étudiées de réponse systémique, conduisant toutes deux à des réponses phénotypique identiques [80].

c. La résistance systémique induite (ISR)

L'ISR est une forme de résistance stimulée spécifiquement par des rhizobactéries (Plant Growth Promoting Rhizobacteria ou PGPR) alors que la SAR est induite par d'autres agents [62]. Les PGPR ont la capacité de stimuler la croissance végétale et de réduire l'impact de certaines maladies [63], [64], [65], [66], [67], [68].

Pseudomonas spp fait partie des PGPR et est exploité commercialement (traitement des graines) en protection des plantes pour induire la résistance systémique contre différents ennemis et maladies. Les PGPR sont efficaces contre différents agents pathogènes, insectes et nématodes en condition de plein champ [69] mais ne causent habituellement aucun symptôme de nécrose sur la plante hôte [62]. Lors de la résistance systémique induite par les PGPR, de profonds changements métaboliques se mettent en place : production de composés phénoliques comme les phytoalexines, accumulation de protéines de stress (protéines PR), de lignine et de callose [70], [71], [72].

Bien qu'il existe peu de tentative d'utilisation des PGPR pour le contrôle des nématodes il a été montré qu'ils induisaient la résistance contre les nématodes [69], [73], [74]. *Pseudomonas fluorescens* peut par exemple induire la résistance systémique et inhiber la pénétration précoce d'*Heterodera schachtii* (nématode à kystes de la betterave à sucre) [75],[76]. *Bacillus subtilis* induit la protection du coton contre *Meloidogyne incognita* [77] et *M. arenaria*. Des études menées sur les nématodes à kystes sur betterave sucrière et pomme de terre ont montrées que cette technique est efficace pour la gestion de ces nématodes [74]. En plein champ, le niveau d'infestation du nématode à galle *M. incognita* sur tomate est réduit (moins de galles et moins d'œufs) suite à un bain racinaire de souches de *P. fluorescens* [78]. Toutes ces études montrent que les PGPR sont efficaces aussi bien sur dicotylédones (pois, concombre, radis, tabac, tomate) que sur monocotylédones (riz, maïs, canne à sucre).

Généralement la protection est de moins longue durée lorsqu'elle est induite par un agent pathogène que lorsque l'on utilise des PGPR.

3. Les réactions de défense

Les réactions de défense se font après reconnaissance du pathogène par la plante. Les PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) sont des signaux moléculaires jouant le rôle de médiateurs dans l'activation de la défense des plantes (composés dérivés de la surface microbienne : glycoprotéines, peptides, carbohydrates, lipides, protéines) [81].

a. Éliciteurs

Un éliciteur est une substance capable de déclencher une cascade d'événements menant à l'expression des réactions de défense chez la plante. Ils sont souvent appelé SDN (stimulateur de défense naturelle). Ils sont constitutifs du pathogène ou sécrétés par lui, ou bien ils sont libérés par les parois cellulaires de l'agent pathogène ou de la plante par action d'enzymes hydrolytiques. Les éliciteurs peuvent être classés de différentes manières (tableau 3).

Ainsi, tous les éliciteurs ont la capacité d'augmenter le niveau de résistance des végétaux vis-à-vis des agresseurs par le déclenchement de la production de substances antibiotiques. Ils ont un large spectre d'action sur diverses maladies et favorisent dans certains cas la tolérance à des stress climatiques [41]. Le premier SDN revendiqué en tant que tel est le

Bion® de chez Syngenta, USA (composé d'acibenzolar-S-methyl, un analogue de l'acide salicylique) mais aujourd'hui les nombreuses études portant sur la stimulation des défenses naturelles des plantes montrent qu'il existe une multitude d'éliciteurs (tableau 4).

Parmi la multitude d'éliciteurs qui ont fait l'objet d'études seulement certains ont été choisis dans la deuxième partie du document afin de stimuler les défenses naturelles de l'ananas et du bananier. En voici une présentation.

Tableau 3 : Classifications existantes pour caractériser les différents types d'éliciteurs

Famille biochimique	protéines, glycoprotéines, glycanes, lipides et molécules de synthèse.
Biotique	pathogènes virulents, non-virulents, métabolites issus de parois cellulaires fongiques
Abiotique	acide salicylique, éthylène, acide isonicotinique, benzothiadiazol, UV, blessures, froid, abrasions,...
Endogène (libérés par la paroi végétale)	sous l'action : - d'enzymes hydrolytiques produites par le pathogènes - de stress abiotiques
Exogène (proviennent de l'environnement)	-sécrétés par des microorganismes -composants protéiques, glycoprotéiques ou polysaccharidiques présents à la surface du pathogène

Tableau 4 : Sélection d'éliciteurs spécifiques ou généraux décrit dans les réactions de défense des plantes d'après [40].

Elicitors	Origin	Host
Oligogalacturonides	Pectic fragments from plant cell wall	General
Chitosan	Chitin fragments from fungus cell wall	General
β-Heptaglucosan	Component of the mycelia cell walls of <i>Phytophthora megasperma</i> and other oomycetes	Soybean
Lipopolysaccharides	Gram-negative bacteria	General
Elicitins (cryptogein)	Proteins from oomycetes (from <i>Phytophthora cryptogea</i>)	<i>Nicotiana</i>
Avr2, Avr4, Avr5, Avr9	Products of the corresponding <i>avr</i> genes of <i>Cladosporium fulvum</i>	Tomato race specific
Pep-13	Oligopeptide of 13 amino acids within a 42-kDa transglutaminase secreted by <i>Phytophthora sojae</i>	Parsley
Flg22	22-amino acid N-terminal fragment of bacterial flagellin	General
Xylanase	<i>Trichoderma</i> spp.	General
BcPG1	Endopolygalacturonase from <i>Botrytis cinerea</i>	Grapevine
AvrPto	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	Tomato race specific

Stifénia®

Le Stifénia® est un produit naturel issu du broyage de la fraction « cotylédons + germe » des graines de fenugrec (*Trigonella foenum graecum*). Le produit se présente sous forme d'une poudre.

Le fenugrec est une plante herbacée de la famille des *Fabaceae*, proche du trèfle et de la luzerne. Cette plante est principalement retrouvée en Afrique et commence à être cultivée

dans le sud de la France. Les fleurs (blanches-jaunâtres) donnent des fruits en forme de gousse renfermant 10 à 20 graines très riches en protéines, phosphore, fer, soufre, vitamines (A, B1 et C), magnésium, calcium et flavonoïdes [41]. La graine de fenugrec a des vertus thérapeutiques (propriétés antioxydantes [82], hypoglycémiantes [83], hypocholestérolémiantes, antiparasitaires [84], anabolisantes).

La plante est utilisée en agriculture biologique en tant qu'engrais vert [41]. Elle possède une efficacité élicitrice sur de nombreux modèles végétaux et sur différentes maladies : fusariose du melon, bactériose du cotonnier, oïdium du fraisier, du rosier et de la vigne [85] [86].

L'action élicitrice du Stifénia® a été démontrée sur des plants de bananier au cours de l'année 2007 au CIRAD. Les observations montrent une réaction des plants au traitement (identification d'un premier marqueur de réponse) et une croissance plus importante. Ceci a amené à poursuivre ces recherches au sein du CIRAD pour comprendre et expliquer le mécanisme d'action de ce type d'élicitation. Au cours de la croissance des régimes de bananier, l'activité de la peroxydase augmente de manière importante après un traitement au Stifénia®. Des bananiers pulvérisés au Stifénia® à la 5^{ème} semaine après floraison montrent une augmentation de l'activité de la phénylalanine ammino-lyase (PAL) [87]. Les bananiers pulvérisés et arrosés par le Stifénia® présentent 15 fois moins de nématodes que les bananiers non traités [87]. De nombreux essais selon les normes du ministère de l'agriculture ont montré l'efficacité du Stifénia® contre le développement de l'oïdium dans les parcelles de vigne [85]. Le produit a obtenu une homologation en 2005 par la société SOFT (Société occitane de fabrication de technologies, France, Port-la-Nouvelle) et est commercialisé depuis 2006 (France, Espagne, Italie, Maroc et Liban) [88], [85]. Ce produit d'origine naturel a été évalué et classé dans les produits non toxiques pouvant être utilisé sans délai avant récolte pour la vigne [87].

De plus, le traitement par du Stifénia® ne cause aucune phytotoxicité [89] et ne montre *a priori* pas un profil susceptible de présenter des dangers pour l'environnement et la santé des consommateurs. Sa biodégradabilité et les faibles doses auxquelles il est appliqué font que les risques de résidus dans le sol sont relativement faibles. Ainsi, l'utilisation de cet éliciteur naturel s'inscrit parfaitement dans le cadre d'une agriculture raisonnée [41].

Les autres éliciteurs étudiés

Méthyle jasmonate

Le méthyle jasmonate est impliqué dans l'expression de la résistance des plantes en tant que signal cellulaire afin d'induire l'expression des gènes de défense ou, dans certains cas, de réguler la mort cellulaire [90]. L'induction de certains gènes de défense est inhibée chez des plantes déficientes en méthyle jasmonate. Par ailleurs une application exogène de méthyle jasmonate sur le feuillage de plantes stimule la biosynthèse des phytoalexines [91].

Acide salicylique

L'acide salicylique a une implication majeure dans les réactions de défense (notamment la SAR). En plus de sa capacité à diffuser le signal à travers les différents organes de la plante, l'acide salicylique, lorsqu'il est appliqué en traitement exogène (vaporisation du feuillage), est capable d'induire la SAR, même en l'absence d'infection [56]. L'état des connaissances sur la voie de signalisation de l'acide salicylique montre qu'il constitue l'un des plus prometteurs stimulateurs de défense naturelle chez les plantes [92]. Toutefois, la plante métabolisant

rapidement cette molécule, des doses très élevées doivent être appliqués. Dans le domaine des molécules de synthèse, les analogues d'acide salicylique ont fait leur apparition dans le marché des stimulateurs de défense des plantes (Bion®).

Trichoderma harzianum (Trianum P-WG®)

Les *Trichoderma* sont des champignons communs libres dans les écosystèmes du sol et des racines. Plusieurs souches établissent une colonisation à long terme de la surface racinaire et pénètrent dans l'épiderme. Les souches en questions produisent ou excrètent plusieurs composés (enzymes hydrolytiques : hydrolases ou cellulases) induisant la résistance systémique et sont non pathogènes pour les plantes colonisées [93]. Il est utilisé comme agent biologique contre de nombreux pathogènes [94].

Pontoscolex corethrurus

Le *Pontoscolex corethrurus* (communément appelé ver de terre) est un organisme vivant du sol qui aurait des effets dans la diminution des dommages occasionnés par les nématodes sur bananiers [95]. Il agirait comme éliciteur mécanique et produit également des substances rhyzogènes au niveau des glandes sécrétrices de son épiderme.

Laminarine (Iodus 40®)

Le Iodus 40®, composé de laminarine, un extrait d'algue brune (*Laminaria digitata*), est homologué par la société Goëmar en France. Il est le premier stimulateur de défense biologique mis sur le marché contre plusieurs maladie du blé. Le Iodus 40® est considéré comme l'alternative la plus pertinente aux triazoles [96]. Les études sur l'utilisation de la laminarine sur de nombreuses autres cultures sont en cours (fraise, pomme, poire, vigne). Suite à des traitements avec la laminarine, on constate une augmentation de l'activité de la LOX [41].

b. Événements de signalisation précoces (figure 10)

Malgré le grand nombre d'éliciteurs pouvant induire une résistance chez les plantes, des schémas généraux peuvent représenter la signalisation cellulaire après élicitation d'une plante. Quelques minutes à quelques heures après la perception de l'éliciteur des événements sont observés sur la plante : activation de protéines de la membrane plasmique, réactions de phosphorylation/déphosphorylation des protéines [40].

Des molécules signales diverses sont mobilisées ou générées directement ou indirectement par l'activation des protéines membranaires. Les molécules signales régulent de nombreux processus qui interconnectent les voies de signalisations caractérisant la réponse de la plante suite à une élicitation [40]. Ces processus physiologiques agissent au niveau des phénomènes de transcription et du métabolisme de la plante :

- flux ioniques dans le cytosol et le noyau (principalement Ca^{2+}) qui modifient la perméabilité membranaire et la composition ionique du cytosol [40]

- production d'oxyde nitrique (NO) et mise en place du 'burst' oxydatif via la production de ROS ($\cdot\text{O}_2^-$; H_2O_2 ; $\cdot\text{OH}$).

Les ROS ont un rôle dans l'inhibition de l'infection [97]. Par exemple, le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) inactive de nombreuses enzymes intracellulaires chez l'agent pathogène mais son action peut être également néfaste pour la plante. La production d'oxyde nitrique en association avec le H_2O_2 déclenche la HR et active l'expression de plusieurs gènes de défense et des PR protéines [98].

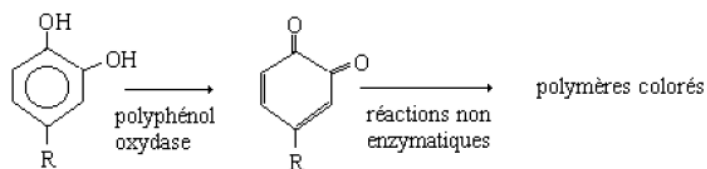
Un éliciteur donné active une voie de signalisation donnée et la réponse observée chez la plante peut être une combinaison des événements précités. Selon le stimulus, la réponse peut différer en cinétique et en intensité. Des études avec des pathosystèmes différents ont montré que les plantes peuvent activer des voies de défenses distinctes, impliquant des régulateurs différents et dépendants du type d'ennemis [99].

c. Les enzymes marqueurs étudiés

La reconnaissance de l'éliciteur occasionne un grand nombre de modifications physiologiques dans la plante. Beaucoup d'enzymes voient alors leur activité biologique augmentée lors de SAR. Ces enzymes marqueurs permettent de caractériser la réaction systémique. La figure 10 montre les réactions enzymatiques qui seront étudiées dans la deuxième partie du rapport afin de mettre en évidence l'existence de la résistance systémique. La mesure de l'activité biologique de ces enzymes permet donc de mettre en évidence l'existence d'une réaction de défense suite à l'élicitation (plus l'activité d'une enzyme donnée est élevée, plus la réaction de la plante est jugée comme importante).

PPOX (polyphénoloxydase)

Ces enzymes sont responsables du brunissement enzymatique qui transforme les composés phénolique en produits quinoniques (fortement antimicrobiens) précurseurs de mélanines colorées selon la formule suivante :



L'acide chlorogénique et le catéchol retrouvés dans les tissus végétaux sont des substrats de la PPOX [100], [101]. Des études montrent une augmentation de l'activité des PPOX suite à des traitements éliciteurs [102], [103].

LOX (lipoxygénase)

La LOX est responsable de la production d'acide jasmonique et d'aldéhyde. Elle est capable de peroxyder les lipides membranaires pour en changer la structure et induit la biosynthèse de protéines de défense (inhibiteurs de protéinase) [104]. Elle entre donc dans le mécanisme de la HR. La LOX est alors impliquée dans les mécanismes de défense des plantes et son activité est augmentée suite à l'application d'éliciteurs [105].

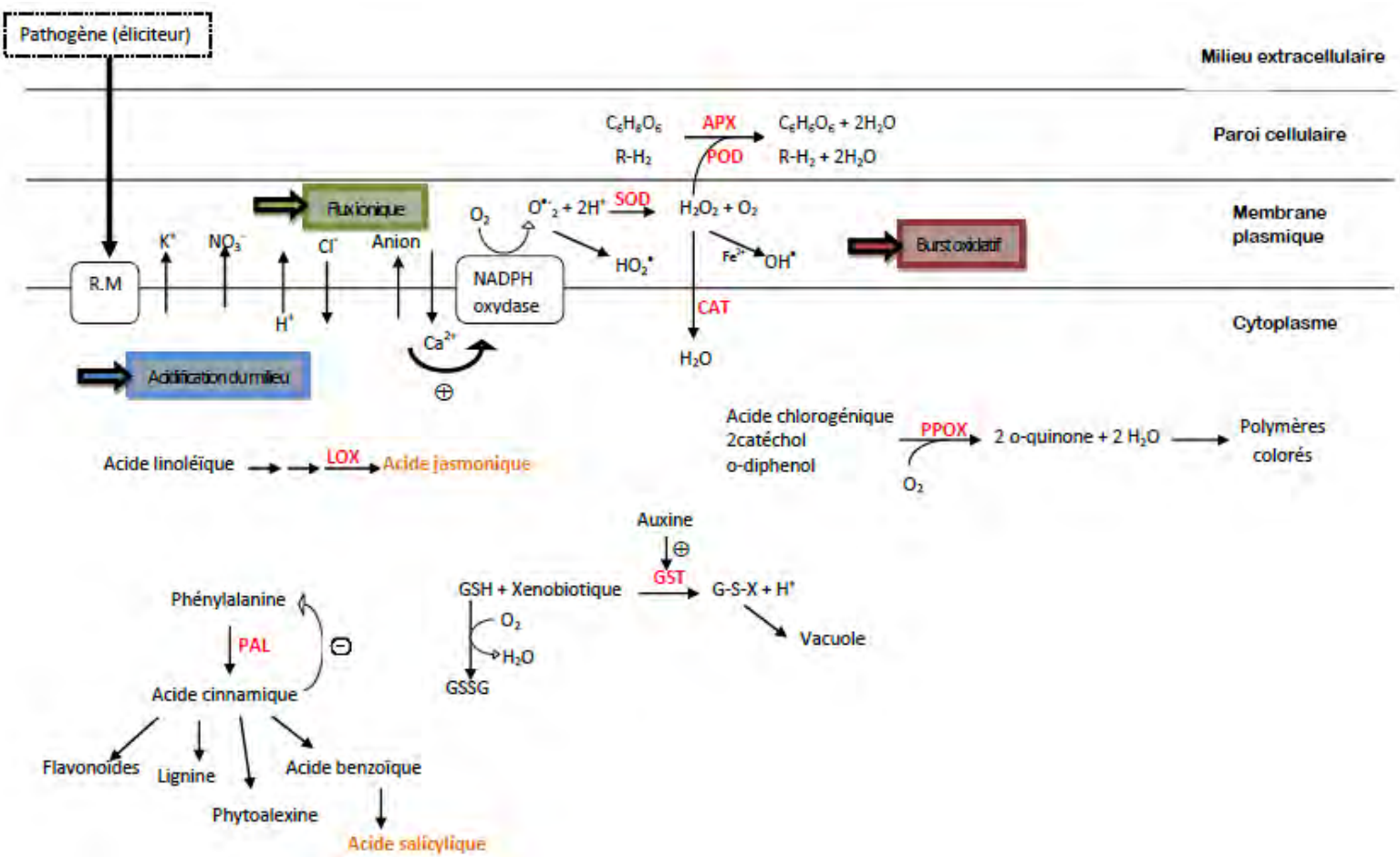
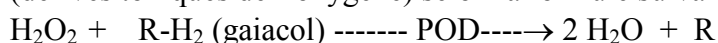


Figure 10 : Schéma simplifié des réactions enzymatiques étudiées et de certains événements cellulaires induits lors de l'ISR et de la SAR. APX: ascorbate peroxydase. CAT: catalase. GST: glutathion-S-transférase. LOX: lipoxygénase. PAL: phénylalanine ammoniolyase. POD: peroxydase. PPOX: polyphénoloxydase. SOD: superoxyde dismutase. GSH: glutathion réduit. GSSG: glutathion disulfide. SDN: stimulateur de défense ROS : espèces réactives de l'oxygène (HO_2^{\cdot} , OH^{\cdot} , $O_2^{\cdot -}$). R.M. : récepteur membranaire

POD (peroxydases)

Les POD ont un rôle clé dans la défense de la plante puisqu'elles décomposent les peroxydes (dérivés toxiques de l'oxygène) selon la formule suivante [106]:



Les POD sont ainsi impliquées dans la résistance des plantes aux agents pathogènes en protégeant les cellules végétales des dommages des ROS. Ces enzymes ont également un rôle dans la réponse de résistance des plantes [106], [107], [108]. On leur connaît un rôle dans la synthèse de la lignine [109] ainsi que de la subérine [110] dans les parois cellulaires de la plante pour former une barrière physique à la pénétration de l'agent pathogène.

Les peroxydases sont capables de convertir des composés phénoliques en composés antimicrobiens [111].

De plus ces enzymes sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques de la plante tels que le métabolisme de l'auxine, la respiration, la biosynthèse de l'éthylène.

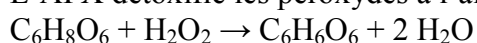
Cet enzyme permet également à la cellule de se protéger des ROS toxiques pour les cellules végétales.

Cet enzyme ne semble pas spécifique de l'ISR ou de la SAR puisque l'on trouve des publications montrant une augmentation de son activité aussi bien après élicitation par un agent pathogène, par un microorganisme avirulent, par un éliciteur d'origine biotique (endogène ou exogène) ou abiotique [112], [102], [113], [114], [115], [116].

APX (ascorbate peroxydase)

L'ascorbate peroxydase convertit H_2O_2 en H_2O et O_2

L'APX detoxifie les peroxydes à l'aide d'ascorbate d'après la formule suivante [117], [118] :



CAT (catalases)

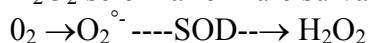
La CAT catalyse la dismutation du peroxyde d'hydrogène selon la formule suivante [117] :

$$2\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$$

Cette enzyme permet à la cellule de se protéger des ROS toxiques pour les cellules végétales.

SOD (superoxyde dismutase)

La SOD est une enzyme anti oxydante puissante. Elle catalyse la conversion d' O_2^\cdot en O_2 et H_2O_2 selon la formule suivante [119], [120], [121]:



Cette enzyme permet à la cellule de se protéger des ROS toxiques pour les cellules végétales.

GST (glutathion S-transférase)

La GST detoxifie les radicaux libres et catalyse l'attaque nucléophile du groupement thiol du tripeptide GSH selon la formule suivante [122] :



PAL (phénylalanine ammonia-lyase)

La PAL agit dans les premières étapes de la synthèse de produits phytochimiques (les phénylpropanoïdes). Elle permet la formation de l'acide cinnamique à partir de la phénylalanine selon la formule suivante [123], [124], [125], [118] :

L-phenylalanine \rightleftharpoons acide cinnamique + NH₃

Il est montré que la PAL est codée par une famille multigénique s'exprimant de manière différente selon les tissus et les plantes. Elle est liée aux membranes du réticulum endoplasmique et peut être regroupée dans des complexes enzymatiques fonctionnels avec différentes enzymes du métabolisme phénolique. Au niveau de ces complexes, les différents intermédiaires métaboliques sont canalisés de manière privilégiée d'une enzyme à l'autre, ce qui évite leur dispersion dans le milieu cellulaire. Cette situation permet également une régulation coordonnée de l'activité des différentes enzymes [126]. La PAL est donc une enzyme responsable de la biosynthèse de nombreux composés végétaux tels que les monomères de lignine et de certaines classes de phytoalexines. Elle peut donc intervenir dans le renforcement des parois cellulaires, dans la destruction du pathogène par la synthèse de phytoalexines, mais aussi dans la transmission de signaux puisqu'elle participe à la synthèse d'acide salicylique. Elle peut également ralentir la progression du pathogène de manière indirecte en favorisant la mort cellulaire via des dommages sur les membranes des cellules. Cet enzyme ne semble pas spécifique de l'une ou l'autre des résistances systémiques (ISR/SAR). En effet, on trouve des publications montrant une augmentation de son activité aussi bien après élicitation par un agent pathogène, par un microorganisme avirulent, par un éliciteur d'origine biotique (endogène ou exogène) ou abiotique [112], [127]. Il existe cependant des inhibiteurs de la PAL qui peuvent être mis en place sous l'effet de températures élevées [126].

II. Matériels et méthodes

A. Objectifs

Encore peu adopté en champ, le principe de « stimulation des défenses naturelles » (SDN) semble constituer une alternative sérieuse à l'utilisation des nématicides dans les bananeraies et les cultures d'ananas de Martinique.

La compréhension des mécanismes physiologiques et biochimiques de défense des plantes face aux microorganismes pathogènes paraît donc cruciale pour l'optimisation de la réponse des végétaux et ainsi améliorer le rendement des plantes cultivées tout en limitant les intrants dangereux pour l'environnement.

Ainsi un double intérêt se dégage :

- mieux comprendre la nature des mécanismes de défense mis en œuvre par l'ananas ou le bananier et évaluer leur efficacité
- pouvoir stimuler ces mécanismes par des pratiques culturales adaptées

La conduite des essais est motivée par trois objectifs principaux:

- montrer que des traitements du sol au Stifénia® sont capables de mettre en place une résistance systémique (stimulation des défenses naturelles) chez le bananier (comparaison avec 5 autres éliciteurs potentiels)
- montrer que ces traitements induisent une diminution de la population en nématodes chez des plants de bananiers et d'ananas préalablement traités
- montrer que les traitements au Stifénia® ont un effet sur la croissance de jeunes plants de bananiers et d'ananas.

L'étude est composée de deux essais distincts :

-La systémie de la résistance est observée à l'aide du dispositif appelé « split root » où les racines de jeunes bananiers sont séparées en deux pots distincts (traité ou non traité par Stifénia®). Après 3 traitements éliciteurs dans la partie traitée, les activités enzymatiques de 8 enzymes (PPOX, POD, PAL, LOX, CAT, APX, GST et SOD) impliquées dans les mécanismes de résistance systémique sont mesurées au niveau des racines non traitées.

-Afin de montrer que l'élicitation réduit les populations de nématodes, des jeunes plants d'ananas et de bananiers cultivés en serre sont traités par le Stifénia® puis inoculés par une population connue en nématodes (*Pratylenchus coffeae* sur bananiers et *Rotylenchulus reniformis* sur ananas). Après le temps nécessaire à l'installation du parasite au niveau du système racinaire, une extraction et un comptage des nématodes est effectué.

Les effets du Stifénia® sur la croissance sont mis en évidence par des mesures de plusieurs indicateurs (masse fraîche des parties aériennes et racinaires, hauteur de la partie aérienne) sur les jeunes bananiers et jeunes ananas ayant subi les traitements éliciteurs. Les effets sur la teneur en chlorophylle est également évaluée.

B. Matériel végétal

Deux variétés d'ananas et une variété de bananier ont été étudiées (figure 11).

Les ananas provenaient de rejets de multiplication végétative produit par des planteurs martiniquais des communes de Basse-Pointe et d'Ajoupa-Bouillon. La variété 'MD2' présente une résistance contre les nématodes alors que la 'Cayenne lisse' est sensible.

La variété de bananier utilisée pour l'étude est la 'Cavendish 902'. Il s'agit d'un clone de grande naine (annexe I [5]). Cette variété provenait d'un producteur de jeunes plants de bananiers situé à Saint-Esprit en Martinique. Le bananier 'Cavendish 902' présente une sensibilité aux nématodes.

Figure 11 : Taxonomie des variétés d'ananas et de bananier utilisées pour l'étude

	Ananas	Banane
Classe	<i>Angiospermes</i>	<i>Angiospermes</i>
Sous-classe	<i>Monocotylédones</i>	<i>Monocotylédones</i>
Famille	<i>Broméliacées</i>	<i>Musaceae</i>
Genre	<i>Ananas</i>	<i>Musa</i>
Espèce	<i>A. comosus</i>	<i>Musa acuminata</i> (AAA)
Variété (cultivar)	'MD2' 'Cayenne lisse'	'Cavendish 902'

C. Mise en évidence de la systémie de la résistance après élicitation par le Stifénia® chez le bananier : essai « split-root »

1. Plan d'expérimentation

Quarante-neuf jeunes plants de bananiers 'Cavendish 902' au stade 3-4 feuilles ont été transplantés en système de « split root » dans une terre naturelle préalablement stérilisée. Pour ce faire, les racines des plants ont été nettoyées et séparées en deux parts égales puis plantées dans deux pots distincts (figure 12)

Les plants ont été maintenus en culture en intérieur devant une fenêtre éclairée par la lumière du jour (température d'environ 26°C). Les arrosages ont été effectués manuellement tous les deux à trois jours. Un traitement foliaire a dû être effectué contre acariens et des apports en engrais ont été faits régulièrement pour s'assurer que les plants bénéficiaient d'une alimentation minérale suffisante.

2. Elicitation des plants de bananiers

L'élicitation a été faite 27 jours après repotage au niveau du pot réservé aux traitements (figure 12).

L'élicitation est faite trois fois à raison d'un traitement tous les 5 jours. Les plants de bananes ont été soumis à 7 traitements différents à raison de 7 plants traités (répétitions) par traitement. Pour des raisons indépendantes de notre volonté, nous n'avons pas de témoin traité à l'eau (tableau 5).

Afin de permettre une meilleure installation du champignon et des vers de terre, les traitements P et Tr ont été effectués une fois de plus que les autres traitements 13 jours avant.

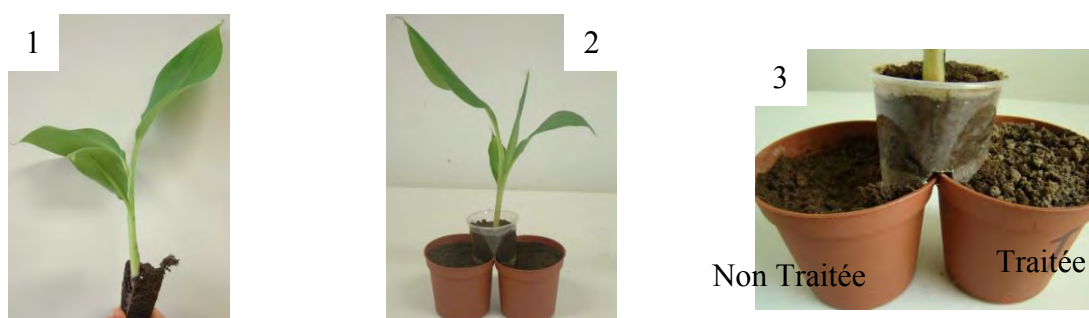


Figure 12 : Installation du système split-root 1. Plants de la pépinière 2.rempotage en système split root. 3. « split root » partie traitée et non traitée

Tableau 5 : Description des traitements effectués sur les racines de bananier de la partie traitée du système « split root »

Abréviation	Traitement	Mode de traitement	Quantité (concentration)
S	Stifénia®	solution versée sur terre	20 mL (20 g/L)
MeJa	Méthyle jasmonate	solution versée sur terre	20 mL (1mM)
Lam	Laminarine 'Iodus 40®'	solution versée sur terre	20 mL (20 g/L)
Tr	<i>Trichoderma harzianum</i> 'Trianum P-WG®'	poudre répartie sur terre	0,3 g
P	Vers de terre <i>Pontoscolex corethrurus</i>	incorporés dans la terre	5 individus pour le premier traitement puis 3 individus pour les traitements suivants
SA	Acide salicylique	solution versée sur terre	20 mL (1mM)
P+Tr+S	Combinaison des traitements P, Tr et S	voir traitements P, S et Tr	voir traitements P, S et Tr

3. Récolte des racines de bananiers

Cinq jours après le dernier traitement, les racines ont été lavées et coupées, en prenant bien soin de séparer distinctement les parties traitées et non traitées. Les racines de chacune des parties ont été ensachées, étiquetées puis congelées à -20°C pour conservation avant analyses enzymatiques (figure 13). Les échantillons de racines récoltées sont ainsi restés intacts en stoppant toute activité enzymatique.

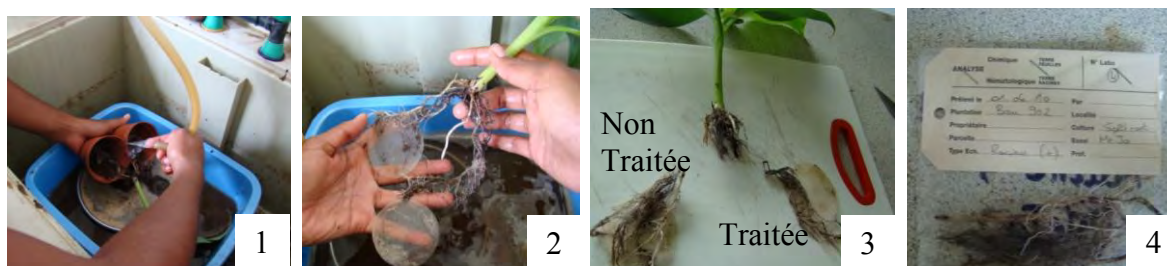


Figure 13 : Récolte des racines de bananiers ‘Cavendish 902’ en système « split-root ». 1. lavage des racines 2. racines lavées 3. racines découpées 4. racines étiquetées et ensachées.

4. Extraits enzymatiques bruts des racines de bananiers

Des extractions enzymatiques ont été effectuées à partir des racines de la partie non traitée de 4 plants de bananiers par traitement (SA, MeJa, Tr, P, P+Tr+S, Lam, et S).

Le protocole d'extraction a été élaboré d'après les travaux de [128], [129] et [130] et les différentes solutions ont été préparées selon les indications de [131]. Toutes les étapes de l'extraction se sont déroulées à basse température (4°C) afin de préserver l'activité des enzymes.

Un échantillon d'environ 2,5 g de racines a été coupé en petits morceaux, puis broyé grâce à un broyeur à mortier (Pulverisette, FRITSCH, Allemagne) dans la solution d'extraction contenant 20 ml de tampon phosphate (Na_2HPO_4 / NaH_2PO_4 , 0,1 M, pH 6,8), 5% de PVPP (PolyvinylPolypyrrolidone) et 0.20% de Tween 20 (Merck, Allemagne). Les échantillons de racines d'ananas ont pu être passés à l'Ultra-Turrax® (IKA®, USA) pour améliorer le broyage lorsque c'était nécessaire. Le broyat a ensuite été centrifugé pendant 30 min à 14000 tours par minute (MR23i Jouan, France). Le surnageant a été filtré sous vide (grade n°1, ø 47 mm, Whatman, Angleterre), puis conservé dans la glace dans un pot enveloppé dans de l'aluminium (évite l'oxydation des polyphénols à la lumière).

5. Mesure des activités enzymatiques

Les extraits enzymatiques étant très fragiles (perte d'activité), les mesures d'activité enzymatique ont du être faites directement après l'extraction.

a. Dosage de l'activité des polyphénoloxydases (PPOX)

Le protocole de mesure des PPOX a été mis au point à partir de la méthode de [100] et [101]. Le substrat utilisé lors de la réaction est le pyrocathécol qui s'oxyde en o-quinone. Ce dernier absorbe à 420 nm et la cinétique est suivie au spectrophotomètre pendant 4 minutes dans une cuve PMMA (Plastibrand, 2,5 ml macro, Allemagne). Le blanc évoluant au cours du temps, l'utilisation d'un spectrophotomètre UV-visible double faisceau (Carry 100 Scan, Varian, Australie) a permis la lecture des deux cuves simultanément afin de recalibrer la mesure de l'essai en fonction de la valeur du blanc.

Les cuves ‘blancs’ et ‘essais’ ont été préparées comme indiqué dans le tableau 6.

L'activité a été obtenue en $A_{420\text{nm}} \cdot \text{min}^{-1}$: calcul de la pente de la partie montante de la courbe Absorbance = f(temps).

Enzymes	Cuve blanc	Cuve essai	Cinétique
PPOX	-2,7mL tampon phosphate 0,1M, pH 6,8 -300µL pyrocathécol 50mM	-2,5mL tampon phosphate 0,1M, pH 6,8 -300µL pyrocathécol 50mM -200µL extrait pur	spectrophotomètre UV-visible double faisceau 420nm, 4min
POD	-2,3mL tampon citrate 0,2M, pH 5 contenant du gaïacol 69mM -500µL H ₂ O ₂ 10mM -200µL eau distillée	-2,3mL tampon citrate 0,2M, pH 5 contenant du gaïacol à 69mM -500µL H ₂ O ₂ 10mM -200µL extrait dilué	spectrophotomètre UV-visible simple faisceau 470nm, 4min
APX	-2,45mL tampon phosphate 50mM, pH 7 -145µL acide ascorbique 0,5mM -300µL eau distillée -200µL extrait pur	-2,45mL tampon phosphate 50mM, pH 7 -145µL acide ascorbique 0,5mM -300µL H ₂ O ₂ 0,5mM -200µL extrait pur	spectrophotomètre UV-visible double faisceau 290nm, 4min
CAT	-2,5mL tampon phosphate 50mM, pH 7 -300µL eau distillée -200µL extrait pur	-2,5mL tampon phosphate 50mM, pH 7 -300µL H ₂ O ₂ 0,34M -200µL extrait pur	spectrophotomètre UV-visible double faisceau 240nm, 3min
LOX	2,9mL tampon substrat	-2,9mL de substrat -50µL extrait pur	spectrophotomètre UV-visible simple faisceau 234nm, 4min
PAL	-2,75mL tampon borate 0,1M, pH 8,8 -250µL eau distillée	Cuve essai : -2,75mL tampon borate 0,1M, pH 8,8 -250µL extrait pur Cuve témoin : -2,75mL tampon borate 0,1M, pH 8,8 -250µL extrait pur	spectrophotomètre UV-visible simple faisceau 290nm, 1h
SOD	-2,4mL réactif au NBT -600µL tampon phosphate 50mM, pH 7,8	-2,4mL réactif au NBT -100µL solution xanthine-oxidase diluée dans du DETAPAC -100µL extrait enzymatique pur -400µL tampon phosphate 50mM, pH 7,8	spectrophotomètre UV-visible double faisceau 560nm, 4min
GST	-1mL tampon phosphate 0.1M, pH 7 -20µL GSH -20µL CDNB	-0,5mL tampon phosphate 0.1M, pH 7 -500µL extrait pur -20µL GSH -20µL CDNB	spectrophotomètre UV-visible double faisceau 340nm, 8min

Tableau 6 : mode opératoire des dosages enzymatiques

b. Dosage de l'activité des peroxydases (POD)

Le protocole de mesure des POD a été inspiré de la méthode mise en place par [114]. Ces enzymes oxydent les phénols (gaïacol) en présence de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂). La cinétique de cette réaction est suivie dans une cuve PMMA pendant 4 minutes à 470 nm avec un spectrophotomètre UV-visible simple faisceau (Carry 50 Scan, Varian, Australie).

Les extraits enzymatiques ont été dilués au 1/10e, 1/20 e ou au 1/100 e en fonction de l'activité de l'échantillon. Les mélanges réactionnels des cuves 'essai' et 'blanc' sont réalisés d'après le tableau 6. L'activité a été donnée en A_{470nm}.min⁻¹.

c. Dosage de l'activité de l'ascorbate peroxydase (APX)

Le protocole de mesure de l'APX a été réalisé à partir de la méthode de [117] modifiée par [118]. L'activité de cette enzyme est déterminée en mesurant la réduction de l'acide ascorbique en ascorbate, en présence de peroxyde d'hydrogène pendant 4 minutes dans des cuves en quartz au spectrophotomètre UV-visible double faisceau à 290 nm.

Les cuves 'essai' et 'blanc' ont été préparées selon le tableau 6. L'activité de l'enzyme en $A_{290\text{nm}}.\text{min}^{-1}$, déterminée par la disparition de l'acide ascorbique, prendra des valeurs négatives.

d. Dosage de l'activité de la catalase (CAT)

Le protocole de mesure de la CAT a été réalisé à partir de la méthode de [117]. La décomposition du peroxyde d'hydrogène par la catalase est suivie dans des cuves en quartz au spectrophotomètre UV-visible double faisceau. La consommation du substrat est observée pendant 4 minutes à 240 nm.

Les cuves 'essai' et 'blanc' ont été réalisées d'après le tableau 6. La courbe de cinétique en $A_{240\text{nm}}.\text{min}^{-1}$, suit la disparition du substrat et prendra, par conséquent, des valeurs négatives.

e. Dosage de l'activité de la lipoxygénase (LOX)

Le protocole de mesure est inspiré d'une méthode utilisée au PARM (Pôle Agroalimentaire Régional de la Martinique). L'étude de la cinétique enzymatique de la LOX est réalisée grâce au suivi de la transformation de l'acide linoléique pendant 8 minutes à 234 nm au spectrophotomètre UV-visible simple faisceau.

Le substrat de l'enzyme (200 mL) a été préalablement préparé ; il contient : 0,5 mL de Tween 20, 10 mL de tampon substrat (Na_2HPO_4 anhydre à 0,1 M, pH 6,5) et 625 μL d'acide linoléique à 2 mmol. Après agitation, quelques gouttes de soude 1 M ont été ajoutées jusqu'à obtention d'une solution limpide. Cette solution a été diluée au 1/2 à l'eau distillée et ajustée au pH 6,5.

Le mélange réactionnel a été fait dans des cuves en quartz comme indiqué dans le tableau 6. L'activité enzymatique a été donnée en $A_{234\text{nm}}.\text{min}^{-1}$.

f. Dosage de l'activité de la phénylalanine ammonia-lyase (PAL)

La mesure de l'activité de la PAL est réalisée selon les méthodes de [123], [124], [125] et de [118]. Elle consiste à mesurer au spectrophotomètre UV-visible à 290 nm, la quantité d'acide cinnamique libérée lors de la réaction de la PAL avec son substrat, la L-phénylalanine.

Le substrat de la PAL pour un extrait est composé de 0,027 g de L-phénylalanine 60 mM dans 2,75 mL de tampon borate 0,1 M, pH 8,8 (acide borique à 0,2 M, solution de borax à 0,05 M). Ce mélange a été préincubé à 40°C pendant 15 min. A chaque extrait enzymatique a été ajouté de la protamine sulfate sous agitation douce afin d'obtenir une concentration finale en protamine sulfate de 1% par extrait. Ce mélange a été incubé 10 minutes à 4°C puis centrifugé à 14000 tours par minute pendant 10 minutes à 4°C.

Le surnageant a été conservé pour la mesure de l'activité de la PAL. Une cuve 'essai', une cuve 'témoin' et une cuve 'blanc' ont été réalisées pour chaque extrait enzymatique selon le tableau 6. Tous ces mélanges réactionnels ont été mis à incuber dans un bain marie à 40°C

pendant 1 heure et la réaction a été stoppée par ajout de 0,1 mL de HCl 6M pour 1 mL de milieu.

L'activité enzymatique, donnée en $A_{290\text{nm}} \cdot \text{h}^{-1}$, a été lue au spectrophotomètre UV-visible simple faisceau dans des cuves en quartz.

g. Dosage de l'activité de la superoxyde dismutase (SOD)

Le substrat de la SOD (O_2^-) étant très instable avec une durée de vie très courte, la méthode de dosage est indirecte. Le protocole de mesure a été mis au point d'après la méthode de [119], [121], [120]. L'activité de la SOD est évaluée par sa capacité à inhiber un flux d'anion superoxyde (O_2^-) généré par le système xanthine/xanthine-oxydase. Les radicaux superoxydes produits par ce système réduisent le nitrobleu de tétrazolium (NBT) en bleu de formazan stable à 560 nm. La cinétique a été effectuée pendant 4 minutes au spectrophotomètre UV-visible à double faisceau.

Dans un premier temps, l'activité témoin de la xanthine oxydase réduisant le NBT a été mesurée. Cette activité a été obtenue en mesurant la cinétique pendant 8 minutes dans une cuve 'référence' comprenant 2,4 ml de réactif au NBT, 100 μl de solution de xanthine-oxydase diluée dans du DETAPAC pH 7,8 et 500 μl de tampon phosphate (Na_2HPO_4 / NaH_2PO_4 , 0,05 M, pH 7,8).

L'activité donnée en $A_{560\text{nm}} \cdot \text{min}^{-1}$ doit avoir une pente comprise entre 0,015 et 0,025 $\Delta\text{DO} \cdot \text{min}^{-1}$. L'inhibition de la réduction du NBT a été mesurée dans la cuve 'essai'. La composition des cuves 'essai' et 'blanc' est donnée dans le tableau 6. La densité optique a été lue durant 4 minutes au spectrophotomètre UV-visible double faisceau dans cuves PMMA.

h. Dosage de la glutathion S-transférase (GST)

La mesure de l'activité enzymatique de la GST a été inspirée de la méthode de [122]. La GST catalyse une réaction de transfert du glutathion réduit (GSH) sur le CDNB (1-chloro-2,4-dinitrobenzène). Le produit de cette réaction absorbe à 340nm. On visualise donc sa formation grâce à un spectrophotomètre double faisceau UV-visible pendant 8 minutes.

Pour les micro-cuves 'essai' et 'blanc' (Plastiband, 70 μl micro, Allemagne), la GSH a été mise à incuber avec l'extrait enzymatique 3 à 5 minutes avant l'ajout du CDNB.

L'activité enzymatique est donnée en $A_{340\text{nm}} \cdot \text{min}^{-1}$.

D. Impact des traitements des racines au Stifénia® sur les populations de nématodes, la croissance et la teneur en chlorophylle de l'ananas et du bananier : essai « serre »

1. Plan d'expérimentation

Quatre-vingt-huit jeunes plants par variété ('MD2' (75-100g), 'Cayenne lisse' (75-100g) et 'Cavendish 902' (stade 3-4 feuilles)) ont été repotés dans une terre préalablement stérilisée (terre naturelle pour les bananiers et terreau pour les pieds d'ananas). Les plants ont cette fois été transplantés en simple pot et installés en serre sur table. Aucun traitement phytosanitaire n'a été effectué pour cet essai et une alimentation minérale suffisante a été apportée au niveau des racines des plants (figure 14 et plan de la serre en annexe VI)

Les jeunes plants ont été maintenus sous irrigation par aspersion automatisée à raison de 3 arrosages de 3 minutes répartis dans la journée (environ 50 mL/plant/jour pour les bananiers et 80 mL/plant/jour pour les ananas). Les plants de chaque combinaison traitement x variété ont été regroupés dans la serre. Les pots ont été recouverts par une toile empêchant les contaminations par des insectes.

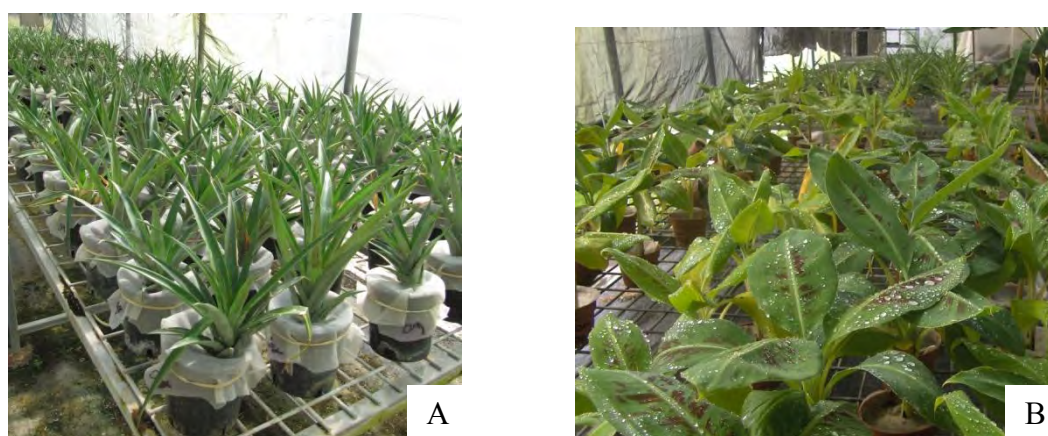


Figure 14 : Ananas 'MD2' et 'Cayenne lisse'(A) et bananiers 'Cavendish 902'(B) en culture sous serre

2. Elicitation des plants de bananiers et d'ananas

L'élicitation a été faite (28 jours après repotage pour les bananiers et 13 semaines après repotage pour les ananas) grâce à une élicitation 3 fois à raison d'un traitement tous les 5 jours. Les plants d'ananas et de bananes ont été soumis aux 7 mêmes traitements que dans l'essai précédent plus un témoin traité à l'eau ; seules les quantités de certains traitements ont été augmentées (tableau 7).

Afin de permettre une meilleure installation du champignon et des vers de terre, les traitements P et Tr ont été effectués une fois de plus que les autres traitements 7 jours avant.

Tableau 7 : Description des traitements effectués sur les racines de bananier et d'ananas dans l'essai « serre »

Abréviation	Traitement	Mode de traitement	Quantité (concentration)
S	Stifénia®	solution versée sur terre	50 mL (20 g/L)
MeJa	Methyle jasmonate	solution versée sur terre	50 mL (1mM)
Lam	Laminarine 'Iodus 40®'	solution versée sur terre	50 mL (20 g/L)
Tr	<i>Trichoderma harzianum</i> 'Trianum P-WG®'	poudre répartie sur terre	0,3 g
P	Vers de terre <i>Pontoscolex corethrurus</i>	incorporés dans la terre	5 individus pour le premier traitement puis 3 individus pour les 2 traitements suivants
SA	Acide salicylique	solution versée sur terre	50 mL (1mM)
P+Tr+S	Combinaison des traitements P, Tr et S	voir traitements P, S et Tr	voir traitements P, S et Tr
T-	Témoin eau	eau versée sur terre	50 mL

3. Récolte des racines pour analyses enzymatiques des racines de bananiers et d'ananas traités

Les racines de 4 plants par traitement et par variété ont été récoltées 5 jours après le dernier traitement (figure 15). Elles ont été lavées, coupées, ensachées, étiquetées puis congelées - 20°C pour conservation avant analyses enzymatiques. Les échantillons de racines récoltées sont ainsi restés intacts en stoppant toute activité enzymatique. Le reste des plants (7 plants par traitement et par variété) a été maintenu en culture pour inoculation avec des nématodes.

Des extractions enzymatiques ont été effectuées à partir des racines d'ananas et de bananiers récoltées précédemment (4 plants/traitement/variété).

Le protocole d'extraction est le même que celui détaillé dans la partie II.B.4. de ce document. Les extraits enzymatiques étant très fragiles (perte d'activité), les mesures d'activité enzymatique ont du être faites directement après l'extraction.

Les mesures d'activité enzymatiques des PPOX, des POD, de l'APX, de la CAT, de la LOX, de la PAL, de la SOD et de la GST ont été effectuées de la même manière que celle décrite dans la partie II.B.5. de ce document.

4. Inoculations de nématodes chez les plants d'ananas et de bananier préalablement traités

Le jour de la récolte des racines des plants traités non inoculés, les 7 plants/traitement/variété restants ont été inoculés par des nématodes (figure 15).

Rotylenchulus reniformis a été l'espèce de nématodes utilisée sur les ananas et *Pratylenchus*

coffaeae sur les bananiers (tableau 8):

-3 mL (2 x 1,5mL) d'une suspension de *R. reniformis* ont été ajoutés au niveau des racines de chaque plant d'ananas, soit environ 5000 nématodes/pot.

-5 mL (2 x 2,5 ml) d'une suspension de *P. coffeae* ont été ajoutés au niveau des racines de chaque bananier, soit environ 5100 nématodes/pot.

L'inoculation a été faite à deux endroits dans le pot. Un trou de 2 cm de profondeur a été préalablement fait dans la terre afin d'y déposer les 2,5 ou 3 ml de suspension de nématodes, puis les trous ont été rebouchés (figure 16).

Afin d'éviter les problèmes de lessivage pouvant emporter les nématodes, les plants n'ont pas été arrosés durant les 4 jours suivant l'inoculation et par la suite les fréquences et le temps d'arrosage ont été modifiés (4 arrosages de 2 min chaque jour : 50mL/plant/jour pour les bananiers et 70mL/plant/jour pour les ananas).

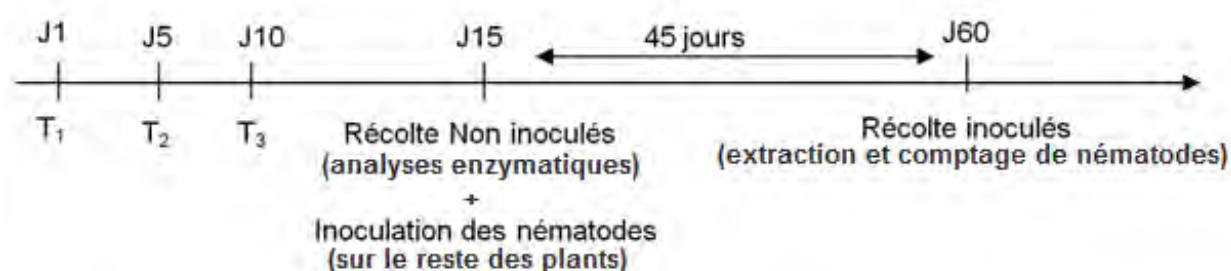


Figure 15 : Chronologie de l'essai « serre »

Tableau 8 : Présentation et classification des 2 espèces de nématodes étudiées

Classification	Famille: Hoplolaimidae Sous famille: Rotylenchulinae Genre: <i>Rotylenchulus</i> Espèce : <i>R. reniformis</i> Linford and Oliveira, 1940	Family: Pratylenchidae Subfamily: Pratylenchinae Genus: <i>Pratylenchus</i> Species: <i>P. coffeae</i>
Plante hôte	Ananas	Musa
	Semi endoparasite	Endoparasite migrateur

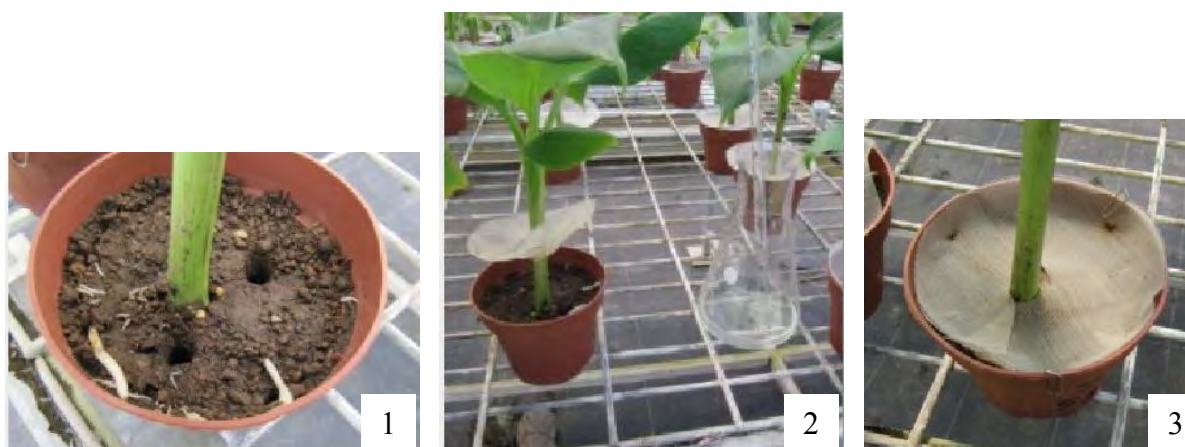


Figure 16 : Inoculation des nématodes *Pratylenchus coffeae* sur bananier en serre. 1. trous de 2cm de profondeur pour accueillir la suspension de *P. coffeae* 2. Prélèvement de 2 x 2.5mL de suspension de *P. coffeae* pour inoculation 3. Plant inoculé

5. Estimation de la population en nématodes chez les bananiers et ananas traités

a. Estimation de la population en *Pratylenchus coffeae* au niveau des racines de bananiers traités

Quarante-cinq jours après l'inoculation, la population de *Pratylenchus coffeae* au niveau des racines de bananier a été estimée par dénombrement afin de déterminer l'effet des éliciteurs sur la résistance des plantes. Pour cela la technique d'extraction de nématodes par aspersion mise au point par l'équipe nématologie du PRAM (pôle de recherche agro-environnemental de la Martinique) a été utilisée (Annexe VII).

Les bananiers ont été dépotés par traitement et les racines lavées à l'eau, coupées en petits morceaux, séchées puis pesées. Elles ont été déposées sur un tamis à toile de moustiquaire et placées sur un entonnoir équipé d'un tuyau d'une dizaine de cm. L'ensemble du dispositif a été placé sur un flacon de 500 ml équipé d'un trop plein de surface sur le support adapté dans la chambre à brouillard (2 minutes de brouillard, 3 minutes de ressuyage) (figure 17).

Au bout de 10 jours, le flacon contenant la suspension en nématodes a été récupéré. Après 2 heures de sédimentation, le trop-plein des flacons a été pompé délicatement à l'aide d'une pompe à vide et la suspension de nématodes a été transférée directement dans un tube gradué de 100 ml avant de procéder au comptage sur un aliquote de la solution à la dilution désirée. Pour le comptage, un bulleur a été mis dans le tube pour remettre en suspension les nématodes. Les nématodes mâles, femelles et juvéniles ont été comptés dans une cellule de comptage de 1mL sous microscope optique.

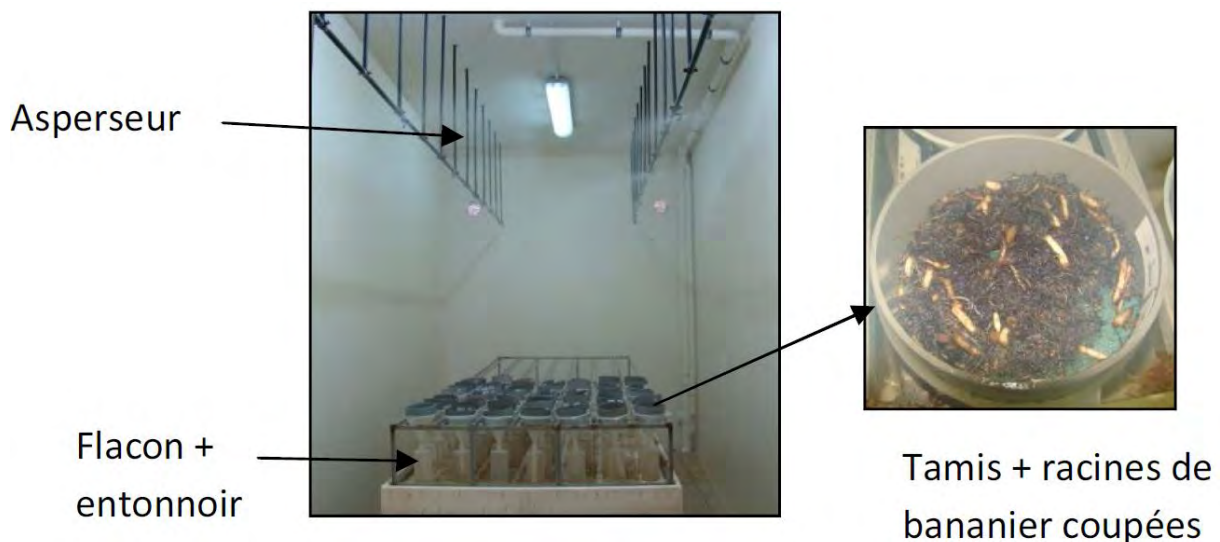


Figure 17 : Chambre à brouillard

b. Estimation de la population en *Rotylenchulus reniformis* au niveau de la gaine de terre des racines d'ananas traités

Quarante-cinq jours après inoculation des plants, la population en *Rotylenchulus reniformis* a été comptabilisée suite à une extraction de nématodes sur gaine de terre puis à une extraction par centrifugation-flottaison.

Extraction de *R. reniformis* sur gaine de terre des racines d'ananas traités (annexe VIII, figure 18)

Ce nématode étant semi-endoparasite, il est retrouvé autour de la racine d'ananas.

Les ananas ont été dépotés et le gros de la terre a été retiré. Les racines avec la gaine de terre ont été pesées puis mises dans une passoire posée sur un seau. Elles ont été soigneusement lavées pour libérer la gaine de terre. L'opération a été répétée sur plusieurs seaux si nécessaire, jusqu'à l'obtention d'une eau presque claire. Les racines ont été séchées, puis pesées. Par différence de pesées ($\text{poids}_{\text{racines}} + \text{gaine de terre} - \text{poids}_{\text{racines}}$) on a obtenu le poids de la gaine de terre pour les calculs.

Le surnageant des différents seaux a été versé sur une colonne de tamis rangés de bas en haut (25, 32, 50, 80 et 250 μm). Le contenu des tamis de 32, 50, 80, et 250 μm a été récupéré dans un godet de centrifugation.

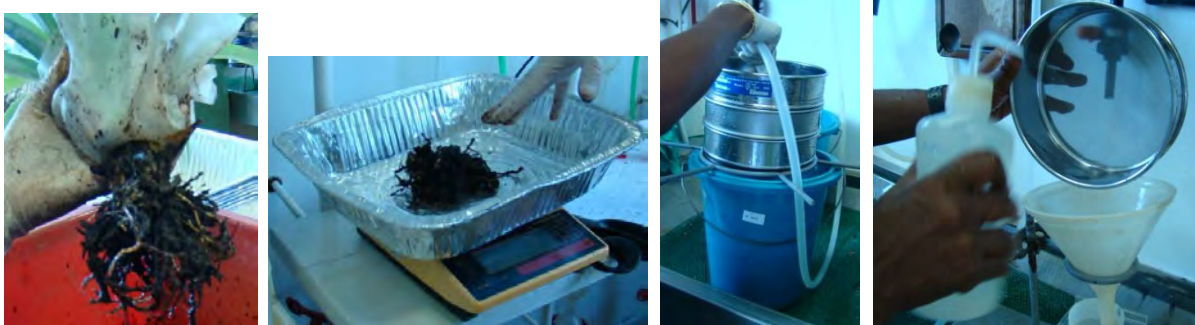


Figure 18 : Etapes du protocole d'extraction de *R. reniformis* sur gaine de terre de racines d'ananas.

Extraction par centrifugation-flottaison (annexe IX [132])

Cette méthode a pour principe l'utilisation de la densité des nématodes par rapport à l'eau et à une solution de sulfate de magnésium.

A partir du godet précédemment obtenu, une extraction de nématodes par centrifugation-flottaison a été réalisée (figure 19).

Trois cuillerées à café de Kaolin (argile concassé qui sert à contenir les débris végétaux et les nématodes pendant la centrifugation) ont été rajoutées dans le godet de centrifugation et la suspension a été homogénéisée à l'aide d'un Vibro-mélangeur (Stirrer SS 10, Stuart Scientific, UK). Les godets ont été centrifugés à 3000 tours/min pendant 5 minutes, puis le surnageant (composé d'eau) a été jeté.

Du sulfate de magnésium (200g) a immédiatement été ajouté au culot.

Le culot a ensuite été remis en suspension avec le Vibro-mélangeur et les godets ont de nouveau été centrifugés (5 minutes à 3000 tours/min). Le surnageant a été placé sur un tamis de 5 μm préalablement mouillé. Le tamis a été laissé en place quelques minutes afin de récupérer le sulfate de magnésium. Le contenu du tamis a été récupéré dans un tube gradué de 50 ml.

Pour le comptage, les nématodes ont été remis en suspension grâce à un bulleur placé dans le tube. Un millilitre de suspension a été placé dans une cellule de comptage pour dénombrer les *R. reniformis* (adultes et œufs) sous microscope optique.



Figure 19 : Etapes du protocole d'extraction par centrifugation-flottaison

6. Effets du Stifénia® sur la croissance et la teneur en chlorophylle des jeunes bananiers et jeunes ananas

Au moment de la récolte des plants d'ananas et de bananier inoculés par les nématodes (7 plants/variété/traitement), des mesures de différents indicateurs de croissance ont été effectuées :

- poids de la partie racinaire
- poids de la partie aérienne
- hauteur de la partie aérienne : dernière feuille complètement sortie pour la banane et feuille D pour l'ananas

Trente-et-un jours après le dernier traitement éliciteur, les teneurs en chlorophylles ont été mesurées au niveau des feuilles d'ananas et de banane grâce à un 'chlorophyllomètre' (Spad-502, Konica Minolta, France). La mesure est faite optiquement (luminescence), par contact direct avec la dernière feuille complètement sortie pour la banane ou la feuille D pour l'ananas. La moyenne de 10 mesures effectuées pour chaque plant traité (7 plants par traitement et par variété) constitue la valeur gardée.

E. Traitements statistiques

Les analyses statistiques ont été effectuées grâce aux logiciels R[®] (version 2.11.1, The R Foundation for Statistical Computing) et XLSTAT[®] (version 2009.6.02, Addinsoft). Pour chacune des variables étudiées, les tests menés ont consistés en une comparaison de moyenne suite à une analyse de la variance lorsque les distributions suivaient une loi normale. Les tests de normalités ont été effectués grâce au test de Shapiro-Wilk. Lorsque la distribution n'était pas gaussienne, le test de Kruskal-wallis a permis de montrer si les médianes étaient différentes.

Le tableau 9 présente les facteurs et variables étudiés pour chaque expérimentation.

Tableau 9 : Facteurs et variables étudiés pour chaque expérimentation

	Variables étudiées	Facteurs étudiés
Essai « split root » effet du traitement Stifénia® sur la systémique de la résistance chez le bananier	activités enzymatiques des racines de bananiers non traitées : LOX, PAL, POD, APX, PPOX, GST, CAT, SOD	'traitement' : Stifénia® comparé aux 6 autres types d'élicitation testés (SA, MeJa, Lam, Tr, P et P+Tr+S)
		'répétition' : 4 par traitement
Essai « serre » - effet du Stifénia® sur :	<u>activités enzymatiques</u> des racines traitées de bananiers : LOX, PAL, POD, APX, PPOX, GST, CAT, SOD	'traitement' : Stifénia® comparé aux 6 autres types d'élicitation testés (SA, MeJa, Lam, Tr, P et P+Tr+S) et au témoin traité à l'eau 'répétition' : 3 par traitement (1 répétition non exploitable)
	<u>activités enzymatiques</u> des racines traitées d' ananas : LOX, PAL, POD, APX, PPOX, GST, CAT, SOD	'variété' : 'MD2' et 'Cayenne lisse'
		'traitement' : Stifénia® comparé aux 6 autres types d'élicitation testés (SA, MeJa, Lam, Tr, P et P+Tr+S) et au témoin traité à l'eau 'répétition' : 3 par traitement
		'répétition' : 3 par traitement
	<u>nombre de <i>Pratylenchus coffeae</i></u> au niveau des racines de bananiers : mâles, femelles, juvéniles, total (par gramme de racine)	'traitement' : Stifénia® comparé aux 6 autres types d'élicitation testés (SA, MeJa, Lam, Tr, P et P+Tr+S) et au témoin traité à l'eau 'répétition' : 7 par traitement
		'répétition' : 7 par traitement
	<u>nombre de <i>Rotylenchulus reniformis</i></u> au niveau de la gaine de terre entourant les racines d' ananas : adultes, œufs, total (par gramme de gaine de terre)	'variété' : 'MD2' et 'Cayenne lisse'
		'traitement' : Stifénia® comparé aux 6 autres types d'élicitation testés (SA, MeJa, Lam, Tr, P et P+Tr+S) et au témoin traité à l'eau 'répétition' : 7 par traitement
	<u>croissance et teneurs en chlorophylles</u> du bananier : -poids de la partie aérienne -poids de la partie racinaire -hauteur de la partie aérienne -teneur en chlorophylle	'traitement' : Stifénia® comparé aux 6 autres types d'élicitation testés (SA, MeJa, Lam, Tr, P et P+Tr+S) et au témoin traité à l'eau 'répétition' : 7 par traitement
		'variété' : 'MD2' et 'Cayenne lisse'
	<u>croissance et teneurs en chlorophylles</u> de l' ananas : -poids de la partie aérienne -poids de la partie racinaire -hauteur de la partie aérienne -teneur en chlorophylle	'traitement' : Stifénia® comparé aux 6 autres types d'élicitation testés (SA, MeJa, Lam, Tr, P et P+Tr+S) et au témoin traité à l'eau 'répétition' : 7 par traitement
		'répétition' : 7 par traitement

III. Résultats et Discussion

L'ensemble des résultats statistiques détaillés obtenus avec les logiciels R commander et XLSTAT est présenté en annexe X. Les groupes de Newman-Keuls ont tous été déterminés en utilisant une probabilité de 95%.

A. Essai « split-root » : mise en évidence de la systémie de la résistance après élicitation par le Stifénia® chez le bananier (figure 20)

Le tableau 10 présente un résumé des résultats statistiques obtenus pour les mesures d'activités enzymatiques au niveau des racines non traitées des bananiers cultivés en « split-root ».

Tableau 10 : Résumé des résultats statistiques concernant les analyses enzymatiques « split-root » bananiers 'Cavendish 902'.

Essai	Enzymes	Suit une loi normale ?	Effets Anova ?	Médianes différentes selon le traitement ?	Médianes différentes selon la variété ?
« Split-root » bananiers	GST	oui	aucun	-	-
	CAT	non	-	non	-
	PPOX	oui	traitement	-	-
	PAL	non	-	non	-
	LOX	oui	traitement	-	-
	POD	oui	aucun	-	-
	APX	oui	traitement	-	-
	SOD	non	-	oui	-

Un effet significatif du traitement sur les activités enzymatiques est observé pour la PPOX, la LOX et l'APX.

Suite au traitement des racines de bananiers au Stifénia®, l'activité enzymatique de la PPOX est inférieure à celle du témoin. Cependant, la combinaison P+Tr+S n'est pas significativement différente du témoin non traité.

L'activité de la LOX n'est significativement pas différentes entre les traitements P+Tr+S, S et T-. On peut toutefois observer des différences entre traitements mais aucuns des traitements n'est significativement différent du témoin non traité.

L'activité de l'APX n'est significativement pas différentes entre les traitements P+Tr+S, S et T-. On peut toutefois observer des différences entre traitements mais seul le traitement P est significativement différent du témoin non traité.

Concernant les activités de la SOD, les traitements P+Tr+S et S ont des médianes différentes au témoin.

Seule la SOD montre des activités enzymatiques significativement plus fortes que le témoin après traitement des racines au Stifénia® ou à la combinaison P+Tr+S (comparaison de médianes).

La SOD agit dans les premiers instants de la réaction de défense induite au sein de la plante. Cet enzyme est chargé d'anaboliser les ROS afin de protéger les cellules contre le « burst oxydatif » (stress oxydatif généré par la plante par la production de d'espèces réactives de l'oxygène). La SOD transforme les ROS toxiques en peroxydes d'hydrogène (également

toxiques) ; ces derniers sont à leur tour transformés en composés non toxiques par d'autres enzymes. Le traitement de plants de bananiers au Stifénia induit donc au moins les premières étapes d'une réponse systémique à travers la plante.

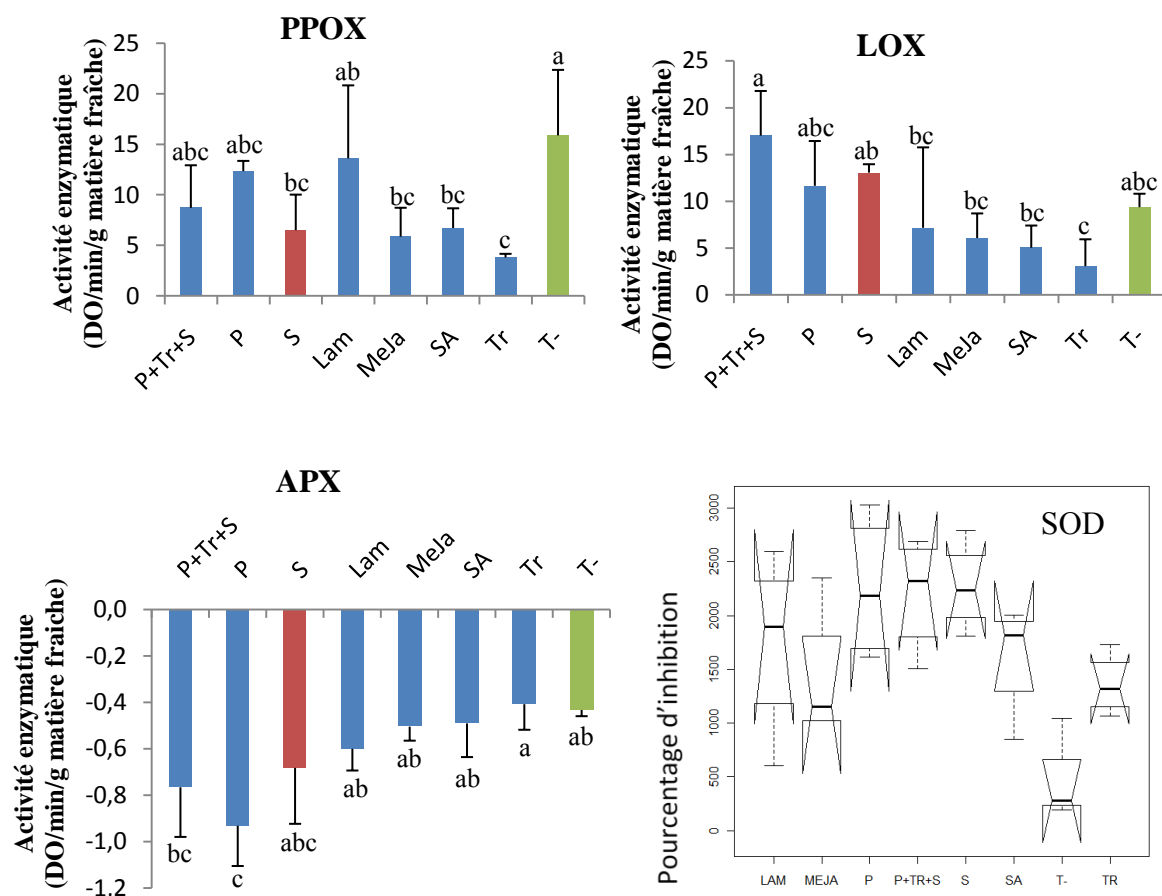


Figure 20 : Activités enzymatiques de la PPOX, de la LOX, de l'APX et de la SOD chez le bananier 'Cavendish 902' (partie racinaire non traitée) : essai « split root ». Les barres d'erreurs correspondent aux écarts types. Les groupes de Newman-Keuls figurent en petites lettres. Les activités de la PPOX, de la LOX et de l'APX sont représentées par leurs moyennes et celles de la SOD sont présentées sous forme de boîte à moustache. PPOX : Polyphénoloxydase LOX : lipoxygénase APX : ascorbate peroxydase SOD : superoxyde dismutase.

B. Essai « serre »

1. Impact des traitements des racines au Stifénia® sur les activités enzymatiques des racines d'ananas et de bananier

a. chez les bananiers 'Cavendish 902' (figure 21)

Seules les activités enzymatiques de la LOX montrent des différences significatives entre les différents traitements au niveau des racines directement traitées (tableau 11).

Le traitement des racines au Stifénia® ainsi qu'à la combinaison P+Tr+S induit des activités enzymatiques plus élevées que celles du témoin non traités. Il ne s'agit cependant pas des meilleurs traitements.

La LOX agit en amont du déclenchement des réactions de défense de la plante et est impliquée dans le métabolisme des molécules signales il est donc logique de la retrouver uniquement au niveau des racines traitées.

Les analyses statistiques montrent des effets répétitions significatifs pour deux enzymes étudiés. Pour les essais à venir, il serait donc préférable de mettre en place un dispositif randomiser ou en bloc afin de s'affranchir d'éventuels facteurs environnementaux et ainsi, d'observer de manière plus juste l'effet du Stifénia® sur l'activation des mécanismes de défense. Les effets des traitements seront également mieux mix en évidence en ayant plus de répétition. En effet, les analyses enzymatiques n'ont été faites que sur quatre répétitions, ce qui est faible.

Tableau 11 : Résumé des résultats statistiques concernant les analyses enzymatiques des racines de bananiers 'Cavendish 902' directement traitées : essai « serre ».

Essai	Enzymes	Suit une loi normale ?	Effets Anova ?	Médianes différentes selon le traitement ?	Médianes différentes selon la variété ?
« Serre » simple bananiers pot	GST	non	-	non	-
	CAT	non	-	non	-
	PPOX	non	-	non	-
	PAL	non	-	non	-
	LOX	oui	traitement	-	-
	POD	oui	répétition	-	-
	APX	oui	répétition	-	-
	SOD	non	-	non	-
« Serre » simple ananas pot	GST	non	-	non	oui
	CAT	non	-	non	oui
	PPOX	oui	traitement	-	-
	PAL	oui	variété, répétition	-	-
	LOX	oui	aucun	-	-
	POD	oui	répétition	-	-
	APX	oui	répétition	-	-
	SOD	oui	répétition	-	-

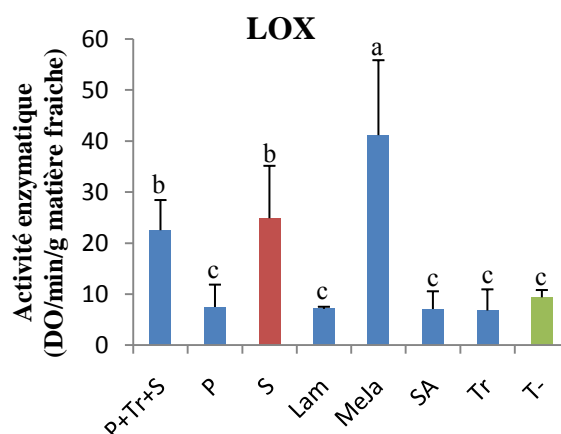


Figure 21 : Moyennes des activités enzymatiques de la LOX chez le bananier 'Cavendish 902' (racines traitées) : essai « serre ». Les barres d'erreurs correspondent aux écarts types. Les groupes de Newman-Keuls figurent en petites lettres. LOX : lipoxygénase.

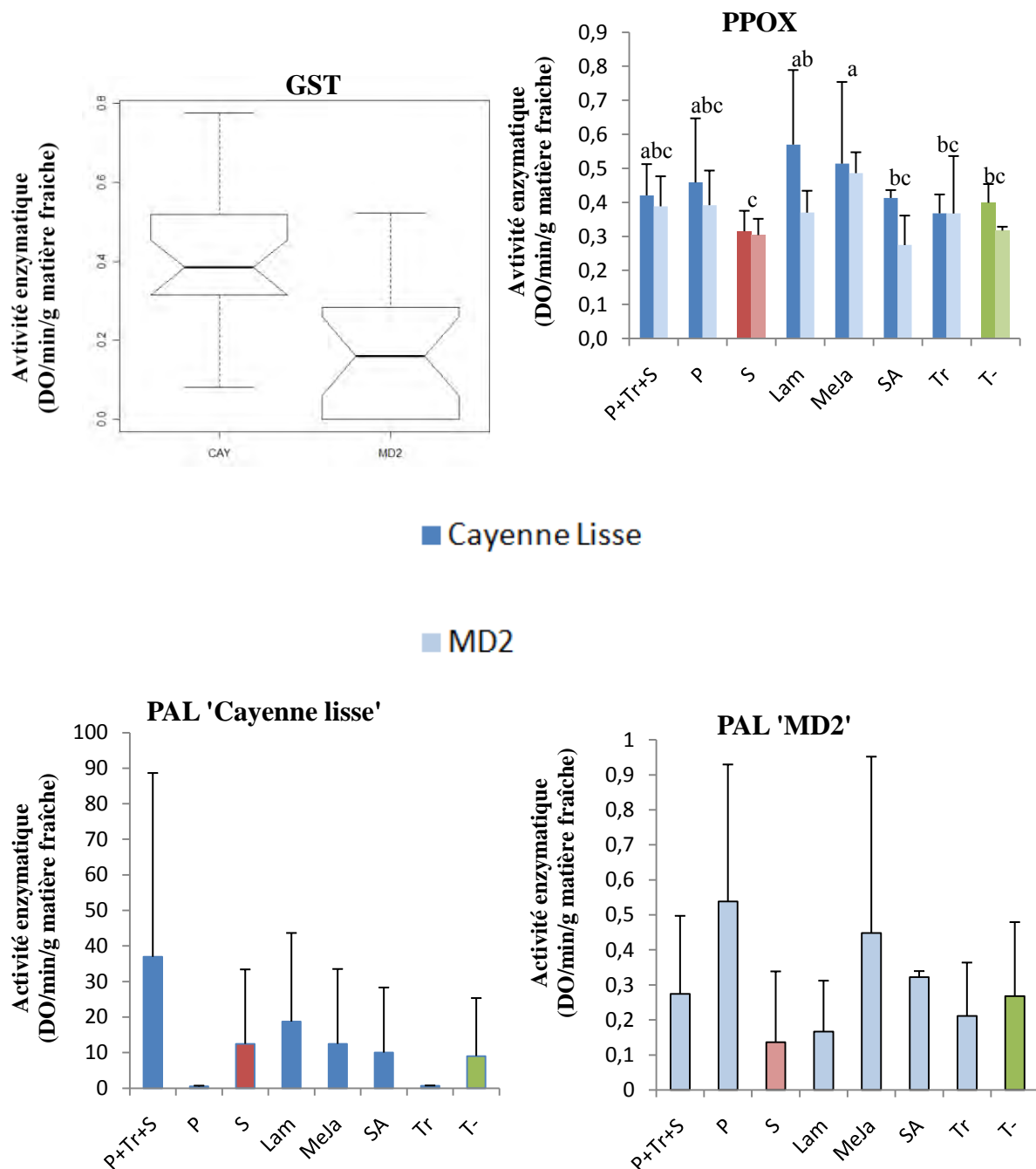


Figure 22 : Activités enzymatiques de la PPOX, de la PAL et de la GST chez les variétés d'ananas 'MD2' et 'Cayenne lisse' (racines traitées) : essai « serre ». Les barres d'erreurs correspondent aux écarts types. Les petites lettres correspondent aux groupes de Fisher. Les activités de la PPOX et de la PAL sont représentées par leurs moyennes et celles de la GST sont présentées sous forme de boîte à moustache. PPOX : Polyphénoloxydase PAL : Phénylalanine ammonialyase GST : Gluthation-S-transférase.

a. chez l'ananas (figure 22 et tableau 11)

Chez l'ananas, les activités enzymatiques de la PPOX montrent des différences significatives entre les traitements, mais pas entre les variétés. Le traitement Stifénia ainsi que le traitement P+Tr+S ne sont cependant pas différents du témoin.

Les activités enzymatiques de la PAL montrent des différences significatives entre les deux variétés d'ananas, mais aucune différence significative entre les traitements n'est mise en évidence par l'Anova. Les activités enzymatiques obtenues pour la variété 'Cayenne lisse' sont plus grandes que celles de la variété 'MD2' (environ *100).

Les médianes des activités enzymatiques de la GST sont différentes entre les deux variétés d'ananas. La variété 'Cayenne lisse' a des activités enzymatiques plus fortes que la variété 'MD2'.

Les études statistiques sur les activités enzymatiques de l'ananas cultivés en serre montrent

- des effets répétitions pour la moitié des enzymes étudiés (4/8)
- peu d'effets traitement (seulement pour la PPOX)

Ceci peut être expliqué par le fait que les ananas aient subi les conséquences d'une défaillance du dispositif d'irrigation pendant la culture : les plants d'ananas n'ont pas reçu des quantités homogènes d'eau selon leur position dans la serre. Les plants ont donc été stressés pour certains par un manque d'eau et pour d'autres par des apports trop importants. Un dispositif d'irrigation plus homogène, l'augmentation du nombre de répétition et un plan d'expérimentation en bloc ou randomisé sont donc à envisager pour les prochains essais.

Les effets du Stifénia® sur l'ananas n'ont pour l'instant été étudiés que sur les racines directement traitées. Les effets systémiques de ce traitement sur l'ananas sont encore en cours d'analyses aujourd'hui (essai « split root » ananas avec le même protocole que l'essai « split root » banane présenté dans ce document). Les résultats pour cet essai viendront dans les semaines à venir.

Les effets du traitement Stifénia® sur les voies de signalisation engagées dans la systémie de la résistance peuvent être approchés par des dosages des molécules signales que sont l'acide salicylique et de l'acide jasmonique retrouvés au niveau des feuilles de bananiers et d'ananas. La mise au point des protocoles d'analyses (faite par chromatographie en phase gazeuse GC/MS) s'est faite en parallèle de cette étude. L'équipe de Mr Soler a obtenu des courbes étalons exploitables permettant de doser ces molécules à des niveaux de l'ordre du nonomolaire. Les résultats mettant en relation le traitement au Stifénia® et les quantités d'acide salicylique et d'acide jasmonique dans les feuilles d'ananas et de bananier des essais présentés dans ce rapport sont attendus pour l'année 2010.

2. Impact des traitements des racines au Stifénia® sur les populations de nématodes de l'ananas et du bananier

*a. Chez le bananier : inoculations avec *Pratylenchus coffeae* (figure 23 et tableau 12)*

Les modèles linéaires généralisés avec loi de poisson sont couramment utilisés afin de décrire des populations de nématodes. L'Anova est alors paramétrée avec une loi de poisson.

Quel que soit la forme considérée (mâles, femelles ou juvéniles), il y a un effet du traitement

sur l'abondance des nématodes.

Le traitement au Stifénia® fait diminuer le nombre de femelle mais semble faire augmenter les deux autres genres de presque autant de %. La quantité de nématodes femelles et juvéniles montre l'état de santé de la population totale. La réduction de ces populations indique donc que la population est en déperdition et que la population totale a toutes les chances de diminuer au cours des générations futures. Cette hypothèse n'est apparemment pas vérifiée dans cet essai.

Le traitement P+Tr+S a un effet significatif sur la quantité finale de nématodes. Ce résultat est plutôt inattendu, puisque l'addition de trois traitements entraîne une augmentation moyenne du nombre de nématodes allant de 41 à 103%. L'hypothèse d'un effet cumulatif des traitements est donc vraiment incertaine. D'autres combinaisons d'éliciteurs pourraient être testées dans le futur pour confirmer ou infirmer ces résultats en fonctions des éliciteurs entrant dans la combinaison.

Les effets du Stifénia® sur les enzymes précédemment cités sont sans doute en relation avec les abondances en nématodes observées ici. Il serait intéressant de faire par la suite un essai en « split root » avec traitement au Stifénia® d'un côté des racines et inoculation-comptage de nématodes pour les racines non traitées.

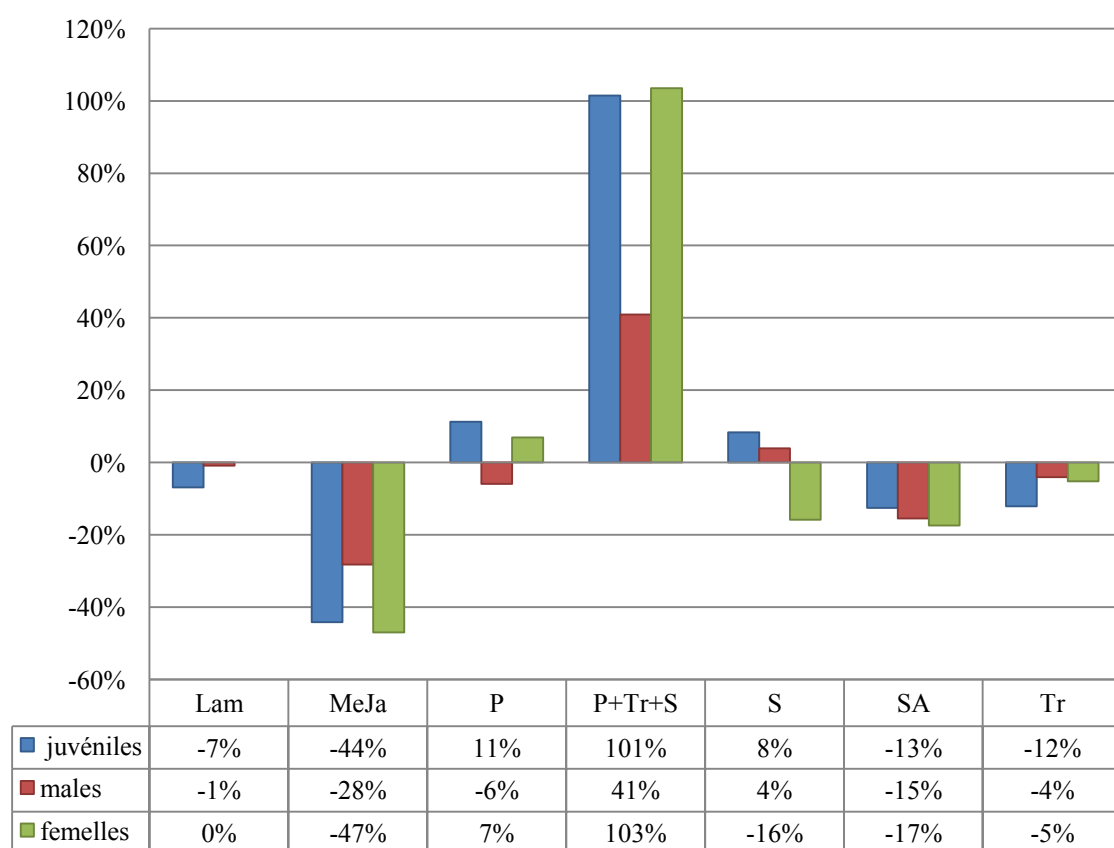


Figure 23 : Effet du traitement sur la quantité finale de *P. coffeae* par rapport au T- chez les bananiers 'Cavendish 902' (racines traitées) : essai « serre ».

Tableau 12 : Infestation moyenne finale par les nématodes *P. coffeae* chez les bananiers ‘Cavendish 902’ (racines traitées) : essai « serre »

	juvéniles par gramme de racines	males par gramme de racines	femelles par gramme de racines
Lam	584	152	80
MeJa	351	110	43
P	698	144	86
P+Tr+S	1263	216	163
S	680	159	67
SA	548	130	66
T-	627	153	80
Tr	551	147	76

*b. Chez l'ananas : inoculations avec *Rotylenchulus reniformis* (figure 24 et tableau 13)*

Tableau 13 : Infestation moyenne finale par les nématodes *R. reniformis* chez les ananas des variétés ‘MD2’ et ‘Cayenne lisse’ (racines traitées) : essai « serre ».

Traitements		Adultes par gramme de sol	Œufs par gramme de sol
Cayenne lisse	Lam	12,2	10,3
	MeJa	4,9	5,5
	P	8,1	10,9
	P+Tr+S	4,1	2,1
	S	10,0	7,9
	SA	8,2	7,3
	T-	6,8	5,2
	Tr	11,4	12,2
MD2	Lam	8,7	7,0
	MeJa	4,1	3,7
	P	3,7	4,3
	P+Tr+S	5,5	7,2
	S	10,5	18,0
	SA	4,0	2,4
	T-	7,0	8,9
	Tr	4,8	7,3

Les traitements ont un effet significatif sur l’abondance des nématodes (adultes et œufs).
La variété d’ananas a un effet significatif sur l’abondance des adultes.

Un modèle plus complet permet de décrire l'abondance totale des nématodes. Il s'avère que le poids racinaire a un effet significatif sur l'abondance des *R. reniformis* dans le sol à proximité des racines. Plus le poids racinaire est élevé, plus les nématodes sont abondants.

D'autre part, il y a également un effet de l'interaction entre variété et traitement ce qui signifie que la réponse des variétés aux différents traitements affecte significativement l'abondance des nématodes.

Indépendamment des variétés, le traitement Stifénia® induit une augmentation du nombre total de *R. reniformis* alors que le traitement P+Tr+S induit une diminution de l'abondance.

La variété 'Cayenne lisse' présente des abondances en nématodes plus forte que 'MD2', ce qui semble logique puisqu'il s'agit d'une variété sensible aux nématodes.

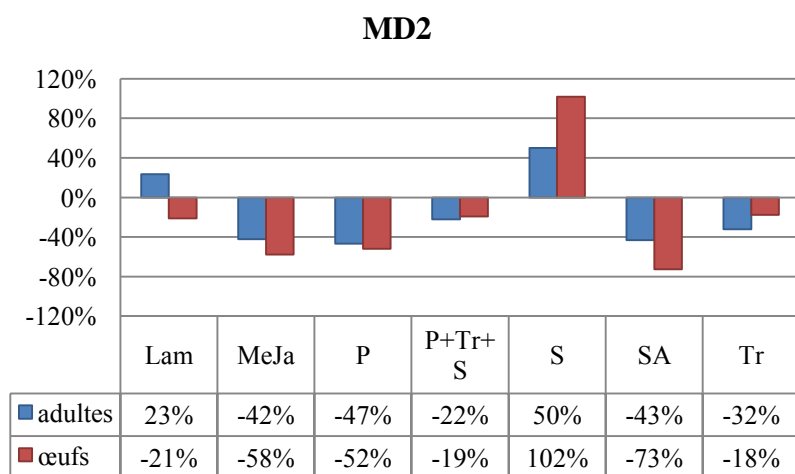
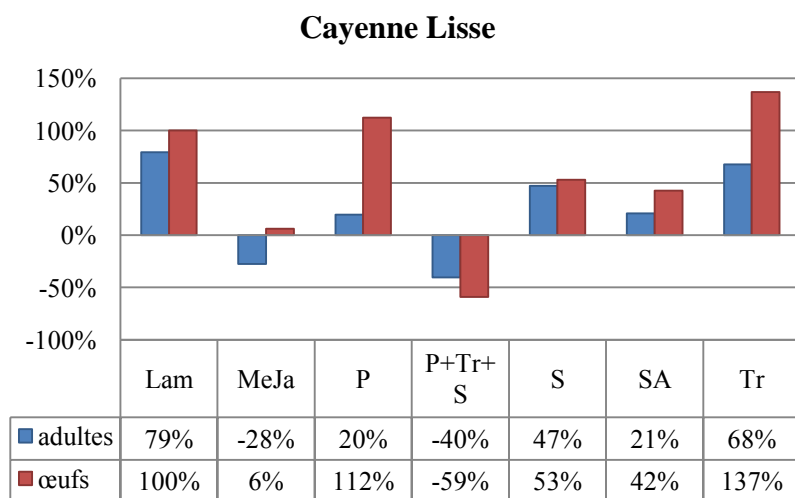


Figure 24 : Effet du traitement sur la quantité finale de *R. reniformis* par rapport au T- chez les ananas des variétés 'MD2' et 'Cayenne lisse' (racines traitées) : essai « serre ».

3. Impact des traitements des racines au Stifénia® sur la croissance et la teneur en chlorophylle de l'ananas et du bananier

Aussi bien pour l'ananas que pour le bananier, les poids aériens et racinaires ainsi que les teneurs en chlorophylle sont différents selon les traitements. Les médianes des hauteurs aériennes sont différentes selon les traitements pour ces deux espèces et selon la variété pour l'ananas (tableau 14).

Tableau 14 : Résumé des résultats statistiques concernant les mesures de croissance et de teneurs en chlorophylle

Essai	Variable	Suit une loi normale ?	Effets Anova ?	Médianes différentes selon le traitement ?	Médianes différentes selon la variété ?
Ananas	Hauteur aérienne	non	-	oui	oui
	Poids aérien	oui	traitement, variété	-	-
	Poids racinaire	oui	traitement, variété	-	-
	Teneur chlorophylle	oui	traitement	-	-
Bananiérs	Hauteur aérienne	non	-	oui	-
	Poids aérien	oui	traitement	-	-
	Poids racinaire	oui	traitement	-	-
	Teneur chlorophylle	oui	traitement	-	-

a. Chez le bananier (figure 25)

Concernant les hauteurs de la partie aérienne, les traitements S et P+Tr+S ont des médianes supérieures au témoin et à l'ensemble des autres traitements.

Les poids des parties aériennes et racinaires ainsi que les teneurs en chlorophylle des plants traités au Stifénia et à la combinaison P+Tr+S sont supérieurs à tous les autres traitements et au témoin non traité.

b. Chez l'ananas (figure 26)

Le traitement des racines d'ananas au Stifénia® ou à la combinaison P+Tr+S induit une hauteur de plant plus grande que le témoin (comparaison de médianes). La variété 'Cayenne lisse' obtient des hauteurs aériennes supérieures à la 'MD2'.

Le poids des parties aériennes des plants traités au Stifénia® est supérieur au témoin.

Cependant la combinaison P+Tr+S n'est pas différente du témoin.

La variété 'Cayenne lisse' présente des valeurs supérieures à la 'MD2' pour les poids racinaires et aériens. Les poids des parties racinaires des plants traités au Stifénia® ou à la combinaison P+Tr+S ne sont pas différents du témoin.

Les teneurs en chlorophylle des plants traités au Stifénia ou à la combinaison P+Tr+S sont supérieures au témoin non traités.

Les traitements Stifénia® (S et P+Tr+S) semblent vraiment prometteur quant à leur impact sur les indicateurs de croissance et les teneurs en chlorophylle des plants de bananiers et d'ananas. Les effets traitements sont tous significatifs sauf pour les hauteurs aériennes. Les effets répétitions ne sont pas significatifs ; ce qui indique une bonne gestion du dispositif

expérimental pour ces mesures de croissance et de chlorophylle. Des effets significatifs du facteur variété sur l'ananas ont été relevés. Le 'Cayenne lisse' présente toujours de meilleurs résultats que le 'MD2'. On peut alors se demander si les valeurs élevées qu'obtient cette variété concernant les indicateurs de croissance ne seraient pas à l'origine des abondances élevées de nématodes. En effet on a vu précédemment que le poids racinaire avait un impact sur l'abondance totale de *R. reniformis* chez l'ananas.

Les effets positifs du Stifénia® sur la croissance et la teneur en chlorophylle ne peuvent pas être uniquement attribués au phénomène de stimulation des défenses naturelles. En effet, le Stifénia®, utilisé en agriculture biologique en tant qu'engrais vert, a pu apporter une quantité supplémentaire d'azote aux plants traités. Pour soulever ce doute il aurait fallu doser l'azote contenu dans la plante afin de mettre en évidence des différences en termes d'apports azotés.

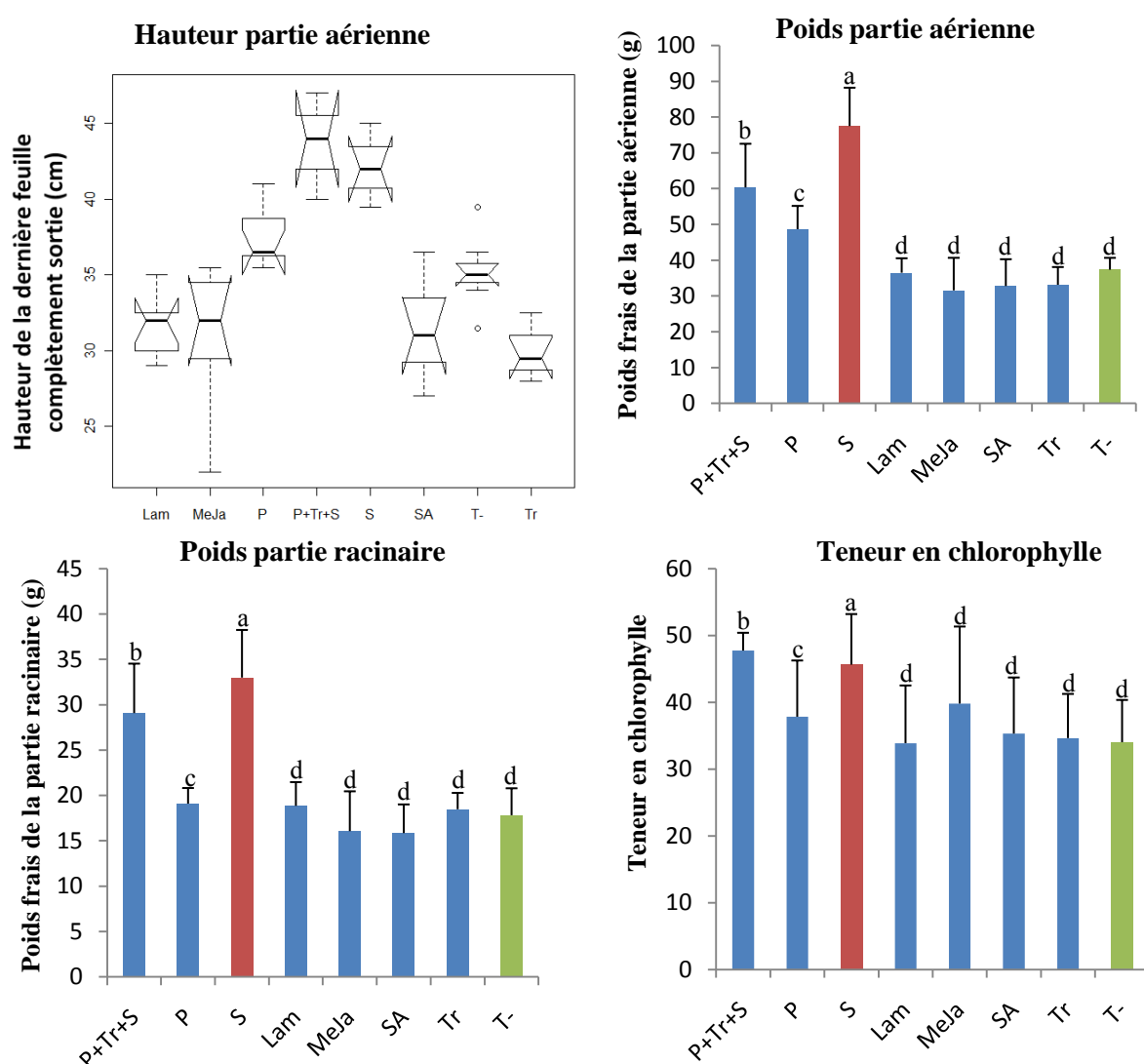


Figure 25 : Mesures des indicateurs de croissance et des teneurs en chlorophylle chez le bananier 'Cavendish 902' suite aux traitements stimulateurs de défense naturelle (racines traitées) : essai « serre ». Les barres d'erreurs correspondent aux écarts types. Les groupes de Newman-Keuls figurent en petites lettres. Les hauteurs de la partie aérienne sont présentées sous forme de boîte à moustache.

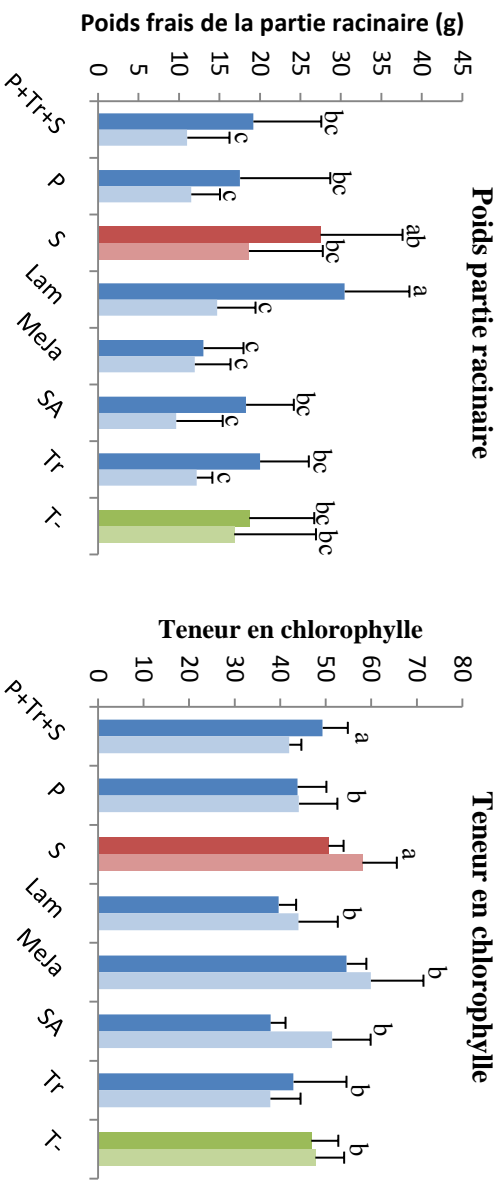
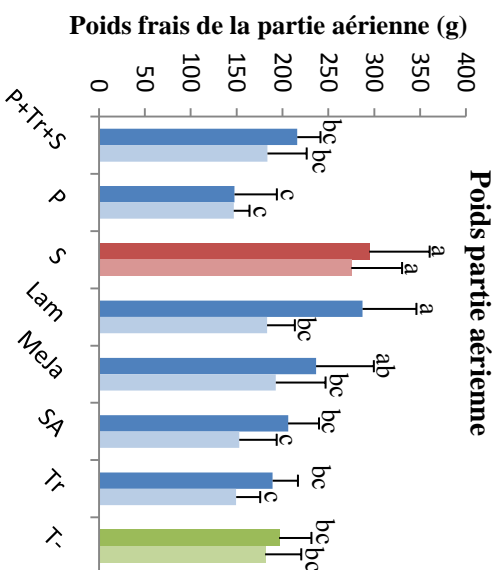
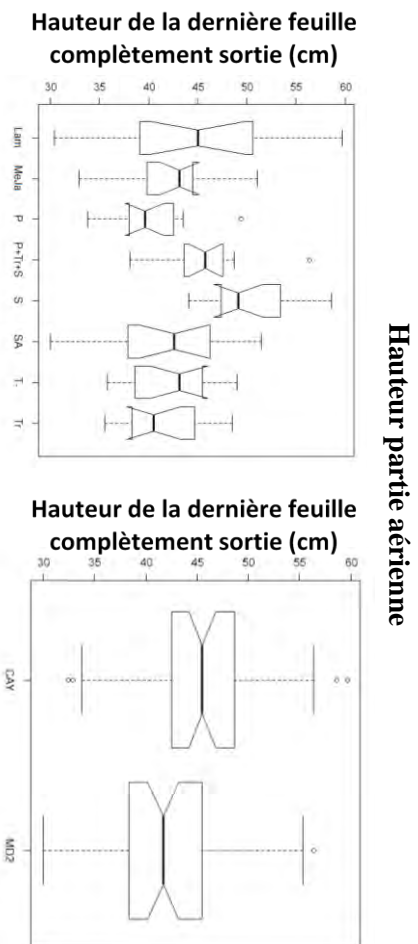


Figure 26 : Mesures des indicateurs de croissance et des teneurs en chlorophylle chez les variétés d'ananas 'MD2' et 'Cayenne lisse' suite aux traitements stimulateurs de défense naturelle (racines traitées) : essai « serre ». Les barres d'erreurs correspondent aux écarts types. Les groupes de Newman-Keuls figurent en petites lettres. Les hauteurs de la partie aérienne sont présentées sous forme de boîte à moustache.

Le manque de significativité pour les effets des traitements sur les activités enzymatiques montre que ce type d'analyse demande une rigueur importante. En effet, les mécanismes de la synthèse des enzymes dont l'activité enzymatique a été mesurée sont extrêmement complexes.

Les effets du traitement P+Tr+S ne suivent pas exactement les mêmes variations que le traitement au Stifénia® seul. L'effet cumulatif peut pour certaines variables étudiées être supposé alors que pas du tout pour d'autres. Y a-t-il donc un réel intérêt à cumuler plusieurs éliciteurs pour un même traitement ? Il faudrait pour le savoir tester d'autres combinaisons d'autres éliciteurs dans la poursuite de l'étude.

Les deux essais présentés ici n'avaient pas pour objectif de dégager un traitement parmi les autres pour lutter contre les nématodes de l'ananas et du bananier. Dans une étude très large, le Stifénia® n'a en fait constitué qu'un des éliciteurs utilisés pour :

- savoir s'il est possible d'induire une résistance systémique par élicitation chez la banane et l'ananas
- caractériser cette résistance du point de vue biochimique en présélectionnant quelques marqueurs enzymatiques
- savoir si cette résistance systémique peut être efficace pour contrôler des populations de nématodes chez l'ananas et le bananier.

Il s'agissait donc d'une étude préliminaire ayant pour but de dégager des tendances pour plusieurs éliciteurs et plusieurs enzymes marqueurs de la résistance systémique. Il est aujourd'hui difficile d'établir des liens évidents quant aux relations complexes entre les traitements éliciteurs, leurs effets sur les activités enzymatiques, sur la diminution des populations de nématodes et sur des indicateurs de croissance et les teneurs en chlorophylle des plants traités.

D'autres essais vont être menés au sein du CIRAD afin de préciser les effets du traitement Stifénia® sur la SDN et la croissance du bananier et de l'ananas. En parallèle, le CIRAD de Martinique met en place des essais testant d'autres éliciteurs potentiels. La chitinase et la β -1,3glucanase, capables de digérer la cuticule (donc plus « agressifs » pour la plante), sont des candidats futurs. L'utilisation de PGPR en tant qu'éliciteur va également être sujette à des études pour déterminer l'implication de ces microorganismes dans la mise en place de la résistance systémique induite.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] CNUCED (conférence des nations unies sur le commerce et le développement). Information de marché dans le secteur des produits de base : la banane. consulté le 06.04.2010 : <http://unctad.org/infocomm/francais/banane/marche.htm>
- [2] CIRAD (centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement). Banane et plantain. consulté le 06.04.2010 : <http://www.cirad.fr/nos-recherches/productions-tropicales/banane-et-plantain/contexte-et-enjeux>
- [3] FAO (food and agriculture organization of the united nations). Indices de production. consulté le 17.06.2010 : <http://faostat.fao.org>
- [4] FEADER (fonds européen agricole pour le développement rural) (2007). Programme de développement rural régional Martinique : état des lieux et stratégie. tome 1, 67 p. consulté le 26.05.2010 : http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/pdr_martinique_tome1.pdf
- [5] Lassoudière A., (2007). Le bananier et sa culture. Edition Quae, 383p.
- [6] CIRAD (centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement) (2007). Banane plantain (document interne), 1 p.
- [7] Frouté J., Aumand B., Nicar D., Direction de l'Agriculture et de la Forêt de la Martinique (2010). Bulletin de conjoncture agricole, 4ème trimestre 2009. Agreste Martinique, 4p.
- [8] Danchin E., (2009). Les bizarreries du génome du nématode à galles *Meloidogyne incognita*. consulté le 15.04.2010 : http://www.inra.fr/annee_darwin/nouvelles_especes/modeles_d_etude/genome_du_nematode_a_galles_meloidogyne_incognita.
- [9] Taylor A.L., (1968). Introduction à la recherche en nématologie. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, Rome, 135p.
- [10] Bridge J., Fogain R., Speijer P., (1997). Parasites et ravageurs des Musa : fiche technique n°2, les nématodes parasites des bananiers. INIBAP (réseau international pour l'amélioration de la banane et de la banane plantain), 4p. consulté le 28.05.2010 : <http://bananas.bioversityinternational.org/files/files/pdf/publications/Pest2fr.pdf>
- [11] Py C., Lacoëuilhe J.J., Teisson C., (1984). L'ananas sa culture, ses produits. Techniques agricoles et productions tropicales, 563 p.

- [12] Morrison S.E., (1963). Journals and other documents of the life and voyages of Christopher Columbus. Heritage Press, New York. Cité par [15].
- [13] Collins J.L., (1960). The pineapple, botany, cultivation and utilization. Leonard Hill Ltd London, 294p.
- [14] Loeillet D., et Paqui T., (2010). Les dossiers de Fruitrop. L'ananas, les principales variétés. Fruitrop, 176 : 23-47.
- [15] Rohrbach K.G., Bartholomew D.P., Paull R.E., (2003). The pineapple : botany, production and uses. Cabi publishing, Londres, 291 p.
- [16] Anon (2002). FAOSTAT database. Food and agriculture organization of the united nations, Rome, Italy. cité par [15].
- [17] Société coopérative des producteurs d'ananas de Martinique.
consulté le 12.04.2010 :
<http://www.anasmartinique.com>
- [18] FEADER (fonds européen agricole pour le développement rural) (2007). Programme de développement rural régional Martinique : mesures, données financières, gestion du programme. tome 2, 177p.
consulté le 26.05.2010 :
http://agriculture.gouv.fr/IMG/pdf/pdr_martinique_tome2.pdf
- [19] Fredon (fédération régionale de défense contre les organismes nuisibles) Martinique. Fiche phytosanitaire : quelques ravageurs de la culture de l'ananas.
consulté le 26.05.2010 :
http://www.fredon972.fr/FTP/Fiches_Phyto/Culture_ananas_ravageurs.PDF
- [20] Konan N.G.O., Mergeai G., (2007). Possibilités d'amélioration de la principale espèce cultivée de cotonnier (*Gossypium hirsutum* L.) pour la résistance au nématode réniforme *Rotylenchulus reniformis* Linford et Oliveira). Biotechnol. Agron. Soc. Environ., 11 (2) : 159–171.
- [21] McSorley R., (2003). Adaptation of nematodes to environmental extremes. Fla. Entomol., 86 (2) : 138–142.
- [22] Treonis AM., Wall DH., (2005). Soil nematodes and desiccation survival in the extreme arid environment of the antarctic dry valleys. Integr. Comp. Biol., 45 : 741–750.
- [23] Ayala A., Ramirez CT., (1964). Host-range, distribution and bibliography of the reniform nematode, *Rotylenchulus reniformis*, with special reference to Puerto Rico. J. Agric. Univ. Puerto Rico, 48 (2) : 140–161.
- [24] Robinson AF., Inserra RN., Caswell-Chen EP., Vovlas N., Troccoli A., (1997). *Rotylenchulus* species: identification, distribution, host ranges and crop plant resistance. Nematopica, 27 (2) : 127–157.

- [25] Robinson A.F., Starr J.L., Cook R., Bridge J., (2002). Plant resistance to parasite nematodes. Cabi publishing, Londres.
- [26] Robinson A.F., (1999). Cotton nematodes. cité par [20]
- [27] Rohrbach K.G., Apt W.J., (1986). Nematode and disease problems of pineapple. Plant disease, 70: 81-87.
- [28] Keetch D.P., (1977). Nematodes in pineapple. Pineapple Series H 18 Farming in South Africa. cité par [34]
- [29] Blasingame D., (1994). Know your cotton nematodes...your hidden enemies. R-P 11255. Cotton foundation, Memphis, Tennessee. cité par [59]
- [30] Bernhard R., Bouquet A., Massese C.S.L., (1985). Diversité des problèmes nématologiques en vergers et en vignobles, solutions chimiques et génétiques. C.R. Acad. Agri. Fr., 71 (7) : 705–718.
- [31] E-phy : le catalogue des produits phytopharmaceutiques et de leurs usages, des matières fertilisantes et des supports de culture homologués en France.
consulté le 23.04.2010 :
<http://e-phy.agriculture.gouv.fr/>
- [32] Ritter M., (1985). Connaissances nouvelles sur la biologie des nématodes ; conséquences pratiques. C. R. Acad. Agri. France, 71 : 691–704.
- [33] Cayrol J.C., Djian-Caporalino C., Panchaud-Mattei E., (1992). La lutte biologique contre les Nématodes phytoparasites. Le Courrier de la Cellule Environnement n°17.
consulté le 20.05.10 :
<http://www.inra.fr/dpenv/cayroc17.htm>
- [34] Braga R., Labrada R., Fornasari L., Fratini N., (2003). Manuel de formation pour les vulgarisateurs et les paysans. Des alternatives au bromure de méthyle pour la fumigation du sol. FAO (food and agriculture organization) - Département de l'agriculture, 88p.
consulté le 28.05.2010 :
<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/005/y1806F/y1806F00.pdf>
- [35] Jourand P., Rapior S., Fargette M., Mateille T., (2004). Nematostatic effects of a leaf extract from *Crotalaria virgulata* subsp. *grantiana* on *Meloidogyne incognita* and its use to protect tomato roots. Nematology, 6 : 79-84.
- [36] Atkinson H. J., McPherson M. J., Urwin P.E., (2004). Method of improving nematode resistance in plants via transformation with a DNA encoding a proteinase inhibitor fusion protein. United States patents. Patent n° : US 6.784.337 B1, 15p.
consulté le 28.05.2010 :
<http://www.freepatentsonline.com/6784337.pdf>
- [37] Cayrol J.C., (1983). La lutte biologique contre les *Meloidogyne* au moyen d'*Arthrobotrys irregularis*. Revue nématologique, 6 (2) : 265-273.

- [38] Carter CH., McGawley EC., Russin JS., (1995). Reproduction of *Rotylenchulus reniformis* on weed species common to Louisiana soybean fields. J. Nématol., 27 : 494–495.
- [39] Adiko A., Badou N'Guessan A., (2001). Evolution de la nématofaune du bananier plantain (*Musa AAB*) en Côte d'Ivoire. Info musa, 10 (2) : 26-27.
- [40] Garcia-Brugger A., Lamotte O., Vandelle E., Bourque S., Lecourieux D., Poinssot B., Wendehenne D., Pugin A., (2006). Early signaling events induced by elicitors of plant defenses. Molecular Plant-Microbe Interactions, 19 (11) : 711-724.
- [41] Benhamou N., (2009). La résistance chez les plantes : principe de la stratégie défensive et applications agronomiques. Lavoisier, Paris, 376p.
- [42] Mysore K.S., Ryu C.M., (2004). Non host resistance: how much do we know? Trends in Plant Science, 9 : 97-104.
- [43] Flor H.H., (1971). Current status of the gene-for-gene concept. Annual review of phytopathology, 9 : 275-296.
- [44] Goodman R.N., Novacky A.J., (1994). The hypersensitive reaction in plants to pathogens. St Paul, MN, USA, APS Press. cité par [75]
- [45] Heath M.C., (2002). Hypersensitive response-related death. Plant Mol. Biol., 44 : 321-334.
- [46] Lam E., Kato N., Lawton M., (2001). Programmed cell death, mitochondria and the plant hypersensitive response. Nature, 411 : 848-853.
- [47] Goodman R.N., (1994). The hypersensitive reaction in tobacco: a reflection of changes in host cell permeability. Phytopathology, 58 : 872-875.
- [48] Siedow J.N., (1991). Plant lipoxygenase : structure and function. Annu. Rev. Plant. Physiol. Plant Mol. Biol., 42 : 145-188.
- [49] Sticher L.B., Mauch-Mani B., Métraux J.P., (1997). Systemic acquired resistance. Annual Review of Phytopathology, 35 : 235-270.
- [50] Cordelier S., de Ruffray P., Fritig B., Kauffmann S., (2003). Biological and molecular comparison between localized and systemic acquired resistance induced in tobacco by a *Phytophthora megasperma* glycoprotein elicitor. Plant Mol. Biol., 51 : 235-238.
- [51] Görlach J., Raesecke H.R., Rentsch D., Regenass M., Roy P., Zala M., Keel C., Boller T., Amrhein N., Schmid J., (1995). Temporally distinct accumulation of transcripts encoding enzymes of the prechorismate pathway in elicitor-treated, cultured tomato cells. Proch. Natl. Acad. Sci. USA, 92 : 3166-3170.
- [52] Hammerschmidt R., (1999). Phytoalexins : what we learned after 60 years? Annual Review of Phytopathology, 37 : 285-306.

- [53] Klarzynski O., Fritig B., (2001). Stimulation des défenses naturelles des plantes. C R Acad. Sci. Paris, série III, 324 : 953-963.
- [54] Ryals J.A., Neuenschwander U.H., Willis M.G., Molina A., Steiner H.Y., Hunt M.D., (1996). Systemic acquired resistance. *Plant Cell.*, 8 : 425-449.
- [55] Yalpani N., Shulaev V., Raskin I., (1993). Endogenous salicylic acid levels correlate with accumulation of pathogenesis-related proteins and virus resistance in tobacco. *Phytopathology*, 83 : 702-708.
- [56] Vernooij B., Friedrich L., Morse A., Reist R., Kolditz-Jawhar R., Ward E., Uknes S., Kessman H., Ryals J., (1994). Salicylic acid is not the translocated signal responsible for inducing systemic acquired resistance but is required in signal transduction. *Plant Cell.*, 6 : 959-965.
- [57] Reymond P., Farmer E., (1998). Jasmonate and salicylate as global signals for defense gene expression. *Current Opinion in Plant Biology*, 1 : 404-411.
- [58] Molders W., Buchala A., Metraux, J.P., (1996). Transport of salicylic acid in tobacco necrosis virus-infected cucumber plant. *Plant Physiology*, 112 : 787-792.
- [59] Stepanova A., Robertson-Hoyt J., Yun J., Benavente L., Xie D., Dolezal K., Schlereth A., Jürgens G., Alonso J., (2008). TAA1-Mediated Auxin Biosynthesis is essential for hormone crosstalk and plant development. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 42 : 195-199.
- [60] Thomma B. P., Penninckx I. A., Broekaert W. F., and Cammue B. P., (2001). The complexity of disease signaling in *Arabidopsis*. *Curr. Opin. Immunol.*, 13 : 63-68.
- [61] Spoel S. H., Koornneef A., Claessens S. M., Korzelius J. P., Van Pelt J.A., Mueller M. J., Buchala A. J., Metraux J. P., Brown R., Kazan K., Van Loon L. C., Dong X., and Pieterse C. M., (2003). NPR1 modulates cross-talk between salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways through a novel function in the cytosol. *Plant Cell.*, 15 : 760-770.
- [62] Van Loon L.C., Bakker P.A.H.M., Pieterse C.M.J., (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 36 : 453-483.
- [63] Kloepper J.W., Sclotch M.N., (1981). Plant growth promoting rhizobacteria and plant growth under gnotobiotic conditions. *Phytopathology*, 71 : 642-644.
- [64] Wei G., Kloepper J.W., Tuzun S., (1991). Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth promoting rhizobacteria. *Phytopathology*, 81 : 1508-1512.
- [65] Wei L., Kloepper J.W., Tuzun S., (1996). Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology*, 86 : 221-224.

- [66] Vidhyasekaran P., Muthamilan M., (1999). Evaluation of powder formulation of *Pseudomonas yuorescens* Pfl for control of rice sheath blight. *Biocontrol Sci. Technol.*, 9 : 67-74.
- [67] Viswanathan R., (1999). Induction of systemic resistance against red rot disease in sugarcane by plant growth promoting rhizobacteria. Ph.D. Thesis, TNAU, Coimbatore, India, 175 p.
- [68] Viswanathan R., Samiyappan R., (1999). Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria against red rot disease caused by *Collectotrichum falcatum* went in sugarcane. *Proceedings of Sugar Technology Association of India*, 61 : 24-39.
- [69] Ramamoorthy V., Viswanathan R., Raguchander T., Prakasam V., Samiyappan R., (2000). Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protection*, 20 : 1-11.
- [70] Van Peer R., Niemann G.J., Schippers B., (1991) Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS417r. *Phytopathology*, 81 : 728-734.
- [71] Zdor R.E., Anderson A.J., (1992). Influence of root colonizing bacteria on the defense response of bean. *Plant soil*, 140 : 99-107.
- [72] Albert F., Anderson A.J., (1987). The effect of *Pseudomonas putida* colonization on root surface peroxidase. *Plant Physiol.*, 85 : 537-541.
- [73] Sikora R.A., Ho!mann-Hergarten S., 1992. Importance of plant health-promoting rhizobacteria for the control of soil-borne fungal diseases and plant parasitic nematodes. *Arab. J. Plant Prot.*, 10 : 53-58.
- [74] Sikora R.A., (1992). Management of the antagonistic potential in agricultural ecosystems for the biological control of plant parasitic nematodes. *Annual Review of Phytopathology*, 30 : 245-270.
- [75] Oostendorp M., Sikora R.A., (1990). In vitro interrelationship between rhizosphere bacteria and *Heterodera schachtii*. *Rev. Nematol.*, 13 (3) : 269-274.
- [76] Oostendorp M., Sikora R.A., (1989). Seed-treatment with antagonistic rhizobacteria for the suppression of *Heterodera schachtii* early root infection of sugar beet. *Rev. Nematol.*, 12 : 77-83.
- [77] Sikora R.A., (1988). Interrelationship between plant health promoting rhizobacteria, plant parasitic nematodes and soil microorganisms. *Med. Fac. Landbouww. Rijksuniv. Gent.*, 53 (2b) : 867-878. Cité par [69]
- [78] Santhi A., Sivakumar V., (1995). Biocontrol potential of *Pseudomonas yuorescens* (Migula) against root-knot nematode, *Meloidogyne incognita* (Kofoid and White, 1919 ; Chitwood, 1949) on tomato. *J. Biol. Control*, 9 : 113-115.

- [79] Park S.-W., Kaimoyo E., Kumar D., Mosher S., Daniel F., (2007). Methyl salicylate is a critical mobile signal for plant systemic acquired resistance. *Klessig science* 318.
- [80] Vallad G.E., and Goodman R.M., (2004). Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. *Crop science*, 44: 1920-1934.
- [81] Nürnberger T., Brunner F., (2002). Innate immunity in plants and animals : emerging parallels between the recognition of general elicitors and pathogen-associated molecular patterns. *Current Opinion in Plant Biology*, 5 (4) : 318-324.
- [82] Amin A., (2005). Chemopreventive activities of *Trigonella foenum graecum* (fenugreek) against breast cancer. *Cell. biol. int.*, 29 : 687-694.
- [83] Dixit P.P., Devasagayam T.P.A., Ghaskadbi S., (2008). Formulated antidiabetic preparation Syndrex® has a strong antioxidant activity. *European Journal of Pharmacology*, 581 : 216-225.
- [84] Sauvaire Y., Ribes G., Baccou J.C., Loubatieres-Mariani M.M., (1991). Implication of steroid saponins and sapogenins in the hypocholesterolemic effect of fenugreek. *Lipids*, 26 : 191-197.
- [85] Siddi C., (2007). Un exemple de résistance induite chez les végétaux : Stimulation des mécanismes de défense par l'éléciteur Stifénia® et phénomène de priming. Thèse université Montpellier II, 204 p.
- [86] Martinez C., Loison M., (2006). La potentialisation des défenses naturelles de la vigne : Stifénia®, un exemple concret. *Phytoma. La défense des végétaux*, 598 : 42-45.
- [87] Ngoc Truong An D., (2008). Impact de l'emploi d'un éléciteur sur le développement et les contaminations du bananier. Mémoire de master, CIRAD Martinique, 53p.
- [88] Organisation mondiale de la propriété intellectuelle. (2004). Brevet Stifénia® : éléciteur provenant d'extraits de *Trigonella-foenum-gracum* pour le traitement des agents pathogènes des plantes, utilisation et procédé de fabrication dudit produit. WO 2004/107864 A1, 21 p.
- [89] Martinez C., Clergue T., (2006). Lutte contre l'oïdium de la vigne : un nouveau stimulateur de défenses naturelles. *Phytoma. La défense des végétaux*, 591 : 40-41.
- [90] La Camera S., Gouzerth G., Dhondt S., Hoffman L., Fritig B., Legrand M., Heitz T., (2004). Metabolic reprogramming in plant innate immunity: the contributions of phenylpropanoid and oxilipin pathways. *Immunol. Rev.*, 198 : 267-284.
- [91] Tamogami S., Rakwak R., Kodama O., (1997). Phytoalexin production elicited by exogenously applied jasmonic acid in rice leaves (*Oryza sativa* L.) is under the control of cytokinins and ascorbic acid. *FEBS Lett*, 412 : 61-64. Cite dans [42]
- [92] Malamy J., Klessig D.F., (1992). Salicylic acid and plant disease resistance. *Plant J.*, 2: 643-654.

- [93] Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chet I., Lorito M., (2004). *Trichoderma* species: opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2 : 43-56.
- [94] Caron J., Laverdiere L., Thibodeau P.O., Belanger R.R., (2002). Use of an indigenous strain of *Trichoderma harzianum* against five plant pathogens on greenhouse cucumber and tomato in Quebec. *Phytoprotection*, 83 (2) : 73-87.
- [95] Lafont A., Risède J-M., Loranger-Merciris G., Clermont-Dauphin C., Dorel M. Rhino B., Lavelle P., (2007). Effects of the earthworm *Pontoscolex corethrurus* on banana plants infected or not with the plant parasitic nematode *Radopholus similis*. *Pedobiologia*, 51 : 311-318.
- [96] Klarzynski O., Plesse B., Joubert J.M., Yvin J.C., Kopp M., Kloareg B., Fritig B., (2000). Linear β -1,3 glucans elicitors of defense responses in tobacco. *Plant Physiology*, 124 : 1027-1037.
- [97] Baker C.J., Orlandi E.W., (1995). Active oxygen in plant pathogenesis. *Annual Review of Phytopathology*, 33 : 299-321.
- [98] Romero-Puertas M.C., Perazzolli M., Zago E.D., Delledonne M., (2004). Nitric oxide signalling functions plant-pathogen interactions. *Cellular Microbiology*, 6 : 795-803.
- [99] Ton J., Van Pelt J. A., Van Loon L. C., and Pieterse C. M., (2002). Differential effectiveness of salicylate-dependent and jasmonate/ethylene dependent induced resistance in *Arabidopsis*. *Mol. Plant-Microbe Interaction*, 15 : 27-34.
- [100] Mayer A.M., Haul E., Shaul R.B., (1965). Assay of catechol oxidase comparison of method. *Phytochemistry*, 5 : 783-789.
- [101] Avallone S., Guiraud J.P., Brouillet J-M., Teisson C., (2003). Enzymatic browning and biochemical alterations in black spots of pineapple. *Current Microbiology*, 47 : 113-118.
- [102] Anand T., Raguchander T., Karthikeyan G., Prakasam V., Samiyappan R., (2007). Chemically and biologically mediated systemic resistance in cucumber (*Cucumis sativus* L.) against *Pseudoperonospora cubensis* and *Erysiphe cichoracearum*. *Phytopathologia Mediterranea*, 46 (3) : 259-271.
- [103] Liu H., Jiang W., Bi Y., Luo Y., (2005). Postharvest BTH treatment induces resistance of peach (*Prunus persica* L. Cv. Jiubao) fruit to infection by *Penicillium expansum* and enhances activity of fruit defense mechanisms. *Postharvest Biol. Technol.*, 35 : 263-269.
- [104] Siedow J.N., (1991). Plant lipoxygenase: structure and function. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 42 : 145-188.
- [105] Mitchell H.J., Walters D.R., (2004). Potassium phosphate induces systemic protection in barley to powdery mildew infection. *Pest Manag. Sci.*, 60 : 126-134.

- [106] Kvaratskhelia M., Winkel C., Thorneley N.F.R., (1997). Purification and characterization of a novel class III peroxidase isoenzyme from tea leaves. *Plant Physiology*, 114 : 1237-1245.
- [107] Hiraga S., Sasaki K., Ito H., Ohashi Y., Matsui H., (2001). A large family of class III plant peroxidases. *Plant and Cell Physiology*, 42 : 462-468.
- [108] Bolwell G.P., Wojtaszek P., (1997). Mechanism for the generation of reactive oxygen species in plant defence – a broad perspective. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 51 : 347-366.
- [109] Ride J.P., (1983). Cell walls and other structural barriers in defence. *Biochemical plant pathology*. Callow, J.A., ed. John Wiley and Sons, New-York, 215-236.
- [110] Mohan R., and Kolattukudy P.E., (1990). Differential activation of expression of a suberization-associated anionic peroxydase gene in near-isogenic resistant and susceptible tomato line by elicitors. *Plant Physiology*, 92 : 276-280.
- [111] Kobayashi A., Koghuchi Y., Kanzaki H., Kajiyama S.I., and Kawasu K., (1994). A new type of antimicrobial phenolics produced by plant peroxidase ads its possible role in the chemical defence systems against plant pathogens. *Zeitschrift für Naturforschung* 49 : 411-414.
- [112] Terry L.A., Joyce D.C., (2004). Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops : a brief review. *Postharvest Biology and Technology* 32 : 1-13.
- [113] Choi H.W., Kim Y.J., Lee S.C., Hong J.K., Hwang B.K., (2007). Hydrogen peroxide generation by the pepper extracellular peroxydase CaPO2 activates local and systemic cell death and defense response to bacterial Pathogens. *Plant Physiology*, 145 : 890-904.
- [114] Hammerschmidt J., Nuckles R., Kuć E.M., (1982). Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum lagenarium*, *Physiological Plant Pathology*, 20 (1) : 73-76.
- [115] Ye X.S., Pan S.Q., Kuc J., (1990). Activity, isozyme pattern and cellular localization of peroxidase as related to systemic resistance of tobacco to ble mold (*Peronospora tabacina*) and tobacco mosaic virus. *Phytopathology*, 80 (12) : 1295-1299.
- [116] Shivakuar P.D., Geetha H.M., Shetty H.S., (2003). Peroxidase activity and isozyme analysis of pearl millet seedlings and their implications in downy mildew disease resistance. *Plant Science*, 164 (1) : 85-93.
- [117] Schoener S., et Krause G.H., (1990). Protective systems against oxygen species in spinach : response to cold acclimation in excess light. *Planta*, 180 : 383-389.
- [118] Zhou, Y., Dahler J.M., Underhill S.J.R., Wills R.B.H., (2003). Enzymes associates with blackheart development in pineapple fruit. *Food chemistry*, 80, 565-572.

- [119] Beauchamps, C., Fridovich, L., (1971). Superoxide dismutase : improved assays and assay applicable to acrylamide gels. *Anal. Biochem.*, 44 : 276-287.
- [120] Oberley L.W., et Spitdz D.R., (1985). Nitroblue tetrazolium. In 'Handbook of methods for oxygen radical research'. Greenwald R.A., ed. CRC Press Boca Raton : 217-220.
- [121] Soler A., (1994). Deviation de la maturation chez l'ananas : le jaune ou translucidité. II. Caractérisation enzymatique du fruit translucide. *Fruits*, 49 (2) : 83-91.
- [122] Habig W.H., Pabst M.J., Jakoby W.B., (1974). Glutathione S-Transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The journal of biological chemistry*, 249 (22) : 7130-7139.
- [123] Parkhurst J.R., and Hodgins D.S., (1971). Phenylalanine and tyrosine ammonia-lyase activity in *Sporobolomyces pararoseus*, *Phytochemistry*, 10 : 2997-3000.
- [124] Martínez G. A., Chaves A. R., and Añón M.C., (1996). Effect of exogenous application of gibberellic acid on color change and phenylalanine ammonia-lyase, chlorophyllase, and peroxidase activities during ripening of strawberry fruit (*Fragaria x ananassa* Duch.). *Journal of Plant Growth Regulation*, 15 (3) : 139-146.
- [125] Fils-Lycaon B., (2007). Extraction, dosage et calculs de l'activité PAL de banane. Rapport d'expérimentation, UMR qualitrop physiologie Guadeloupe.
- [126] Macheix J.J., Fleuriet A., Jay-Allemand C., (2005). Les composés phénoliques des végétaux – un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes, 192p.
- [127] El Ghaouth A., Wilson C.L., Callahan A.M., (2003). Induction of Chitinase, β -1.3-Glucanase, and Phenylalanine Ammonia lyase in Peach Fruit by UV-C Treatment. *Phytopathology*, 93 (3) : 349-355.
- [128] Wuyts N., DeWaele D., Swennen R., (2006). Extraction and partial characterization of polyphenol oxidase from banana (*Musa accuminata* Grande naine) roots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 44 : 308-314.
- [129] Neves V.A., et Da Silva M.A., (2007). Polyphenol oxidase from Yacon roots (*Smallanthus sonchifolius*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 55 : 2424-2430.
- [130] Damodaran T., Kumar N., Kavino M., (2009). Bredding and evaluation of Musa hybrids resisant to *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cubense* race 1. *Fruits*, 61 : 3-12.
- [131] Dawson R.M.C., Elliott D.C., Elliot W.H., Jones K.M., (1986). Data for Biochemical Research, third edition. Oxford university Press, 580 p.
- [132] Coolen, W.A., D'Herbe C.J.A., (1972). Method for the quantitative extraction of nematodes from plant tissue. Ghent, Belgium : States Agricultural Research Center : 77p.



**Centre d'Angers - Institut National
d'Horticulture et de Paysage**

2, rue André Le Nôtre
49045 ANGERS Cedex 01
Tél : 02 41 22 54 54



**Centre de coopération
Internationale en Recherche
Agronomique pour le
Développement**

Avenue Agropolis
34000 MONTPELLIER
Tél : 04 67 61 58 00



**Pôle de Recherche Agro-
environnementale de la
Martinique**

Petit-Morne - BP 214
97285 LE LAMENTIN cedex 2
Tél : 0596 42 30 00

Mémoire de Fin d'Etudes

**Diplôme d'Ingénieur de l'Institut Supérieur des
Sciences Agronomiques, Agroalimentaires,
Horticoles et du Paysage**

Spécialité : Horticulture

Option : SEVE

**Etude de l'éliciteur Stifénia® dans la résistance
systémique et la lutte alternative contre *Pratylenchus
coffae* sur bananiers et *Rotylenchulus reniformis* sur
ananas**

Par : Soline PICARD

ANNEXES

Soutenu à Angers, le : 20 septembre 2010

JURY

Maître de stage : Marie-Noëlle DUCAMP-COLLIN (CIRAD, Montpellier)

Alain SOLER (PRAM-CIRAD, Martinique)

Tuteur : Philippe ROBERT

Enseignant responsable de l'option : Stéphane POUSSIER

Autres membres du jury : Damien PICARD (Université d'Angers)

Emmanuel PAJOT (Valinov, Angers)

Invité : Lucien Delpech (SOFT, Port-la-Nouvelle)

Annexe I : Classification des principaux cultivars de bananiers parthénocarpiques [5].

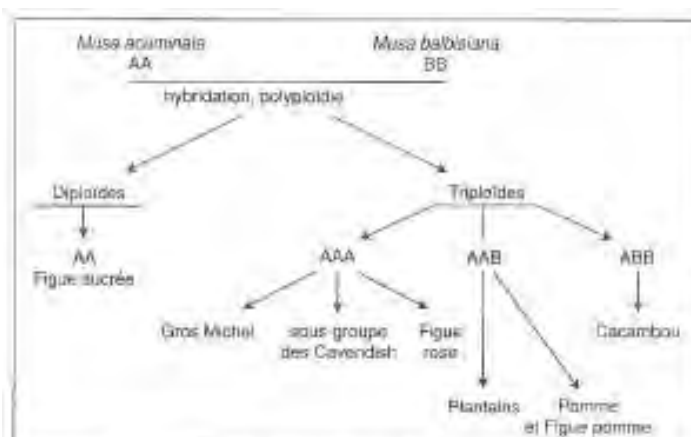


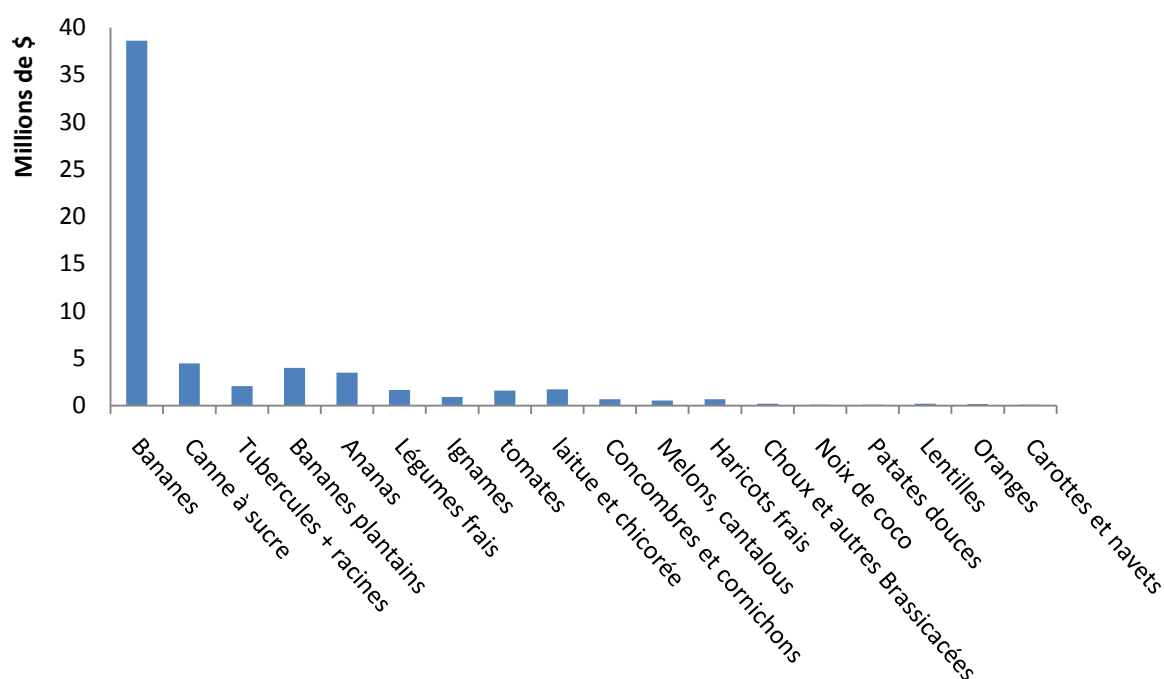
Figure 13. Schéma de classification des cultivars à fruits parthénocarpiques (Cirad).

Tableau 1. Principaux cultivars à fruits comestibles.

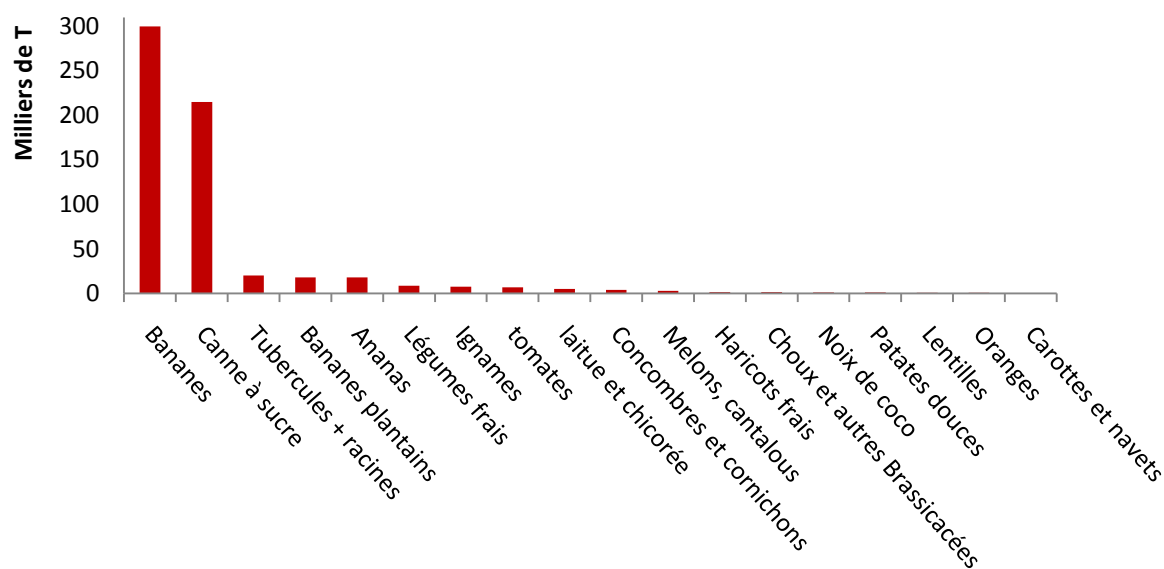
Groupe	Sous-groupe	Cultivar	Type de fruit
AA	Sucrier	Pisang mas, Brayssinette, Figue sucrée	Dessert
	Pisang lili	Pisang lili	Dessert
	Pisang betangan	Pisang betangan	Dessert
	Lakatan	Lakatan	Dessert
AAA	Cavendish	Lakatan, Poyo, Williams, Grande Naine, Petite Naine	Dessert
	Gros Michel	Gros Michel, Coûtes, Highgate	Dessert
	Figue rose	Figue rose, Figue rose verte	Dessert
	Ligira	Imuna, Majuba	À boire, à cuire
	Ibota	Yangambi km5	Dessert
AB	Ney Poovan	Safer Velchi, Sahari	Dessert acide
AAB	Figue pomme	Maçã, Sêk	Dessert acide
	Ponze	Ponze	Dessert acide
	Mysore	Pisang ceylan	Dessert acide
	Pisang kelat	Pisang kelat	Dessert
	Pisang rajah	Pisang rajah bulu	À cuire
	Plantains	cultivars French	À cuire
	Plantains	cultivars faux corne	À cuire
	Plantains	cultivars Corne	À cuire
	Popoulou	Popoulou	À cuire
	Lakatan	Lakatan	À cuire
ABB	Pisang mangga	Pisang mangga	À cuire
	Bluggoe	Bluggoe, Maravia, Poteau, Cacambou	À cuire
	Pelepita	Pelepita	À cuire
	Pisang awak	Pisang awak	Dessert
	Peyan	Peyan	À cuire

Annexe II : Principales productions alimentaires végétales de la Martinique en 2008 [3].

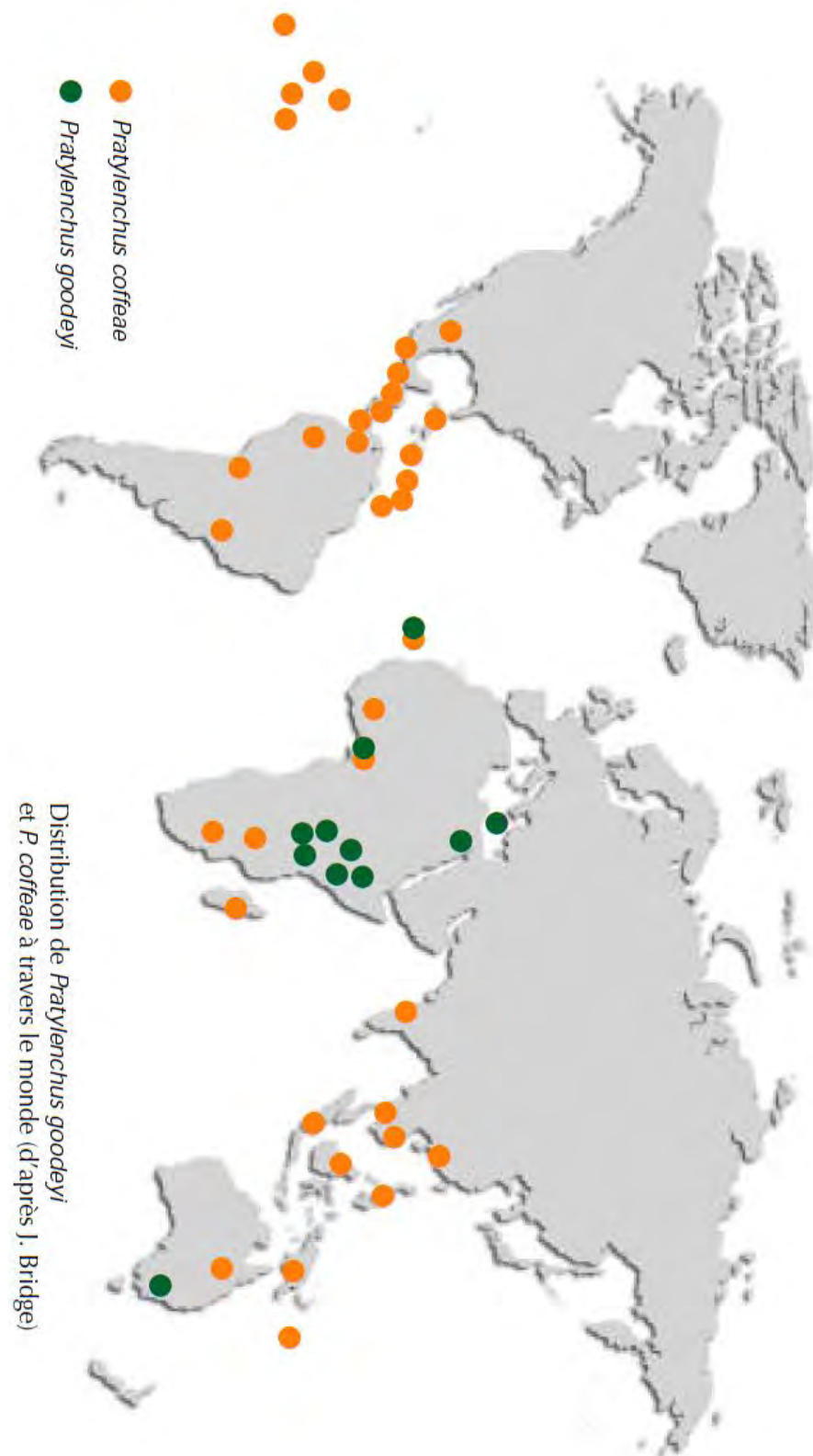
Principales productions alimentaires végétales de la Martinique en 2008



Principales productions alimentaires végétales de la Martinique en 2008



Annexe III : Distribution de *Pratylenchus goodeyi* et *P.coffeae* à travers le monde [10].



Annexe IV : Production d'ananas (t), surface récoltée (ha) et rendement (t.ha⁻¹) par pays (2001) [16].

Country	Production (t)	Harvested (ha)	Yield (t ha ⁻¹)
Thailand	2,300,000	97,300	24
Philippines	1,571,904	45,000	35
Brazil	1,442,300	59,238	24
China	1,284,000	57,700	22
India	1,100,000	80,000	14
Nigeria	881,000	115,000	8
Mexico	535,000	12,500	43
Costa Rica	475,000	12,000	40
Colombia	360,000	9,000	40
Indonesia	300,000	42,000	7
Venezuela	300,000	15,000	20
USA	293,000	8,130	36
Kenya	280,000	8,500	33
Côte d'Ivoire	225,675	5,200	43
South Africa	145,441	6,200	23
Australia	140,000	3,000	47
Dominican Republic	136,862	5,500	25
Malaysia	130,000	7,000	19
Guatemala	101,287	3,710	27
Honduras	70,000	3,900	18
Cameroon	42,000	4,000	11
Martinique	20,800	484	43
Swaziland	19,680	600	33
Cuba	19,000	400	48
Cambodia	16,500	1,600	10
Puerto Rico	15,000	500	30

Annexe V : Nématicides homologués en France [31].



Intrant: NEMACUR 5

Société: MAKHTESHIM AGAN FRANCE

Numéro d'autorisation: 7200282

Famille: Produits Phytopharmaceutiques (Produit de référence)

Formulation: GRANULES

Composition de la spécialité:

Phenamiphos 5. %

Phrases de risque/prudence/toxicologie:

Phrase de Prudence Y VOIR ARRETES APPROPRIES SUR LES CLASSEMENTS ET L'ETIQUETAGE POUR LES CONSEILS DE PRUDENCE

Phrase de Risque R25 TOXIQUE EN CAS D'INGESTION



Risque de Toxicologie T TOXIQUE

Commentaires associés à la spécialité:

APPLICATION DE L'ARRETE DU 28 MARS 1989
TRANSFERT

Dose	Unité	Usage
60.000	G/PIED	BANANIER * TRAIT. DES PLANTS * NEMATODES

Date réf.	Max appl. (j)	DAR	IZNT	Délai commerc. util.	Délai
08/12/2003					

Légende:

- ⊕ : Usage autorisé
- ⊕ : Usage autorisé provisoirement
- ⊖ : Usage retiré
- ⊖ : Usage refusé



Intrant: DORLONE 2000

Société: DOW AGROSCIENCES S.A.S

Numéro d'autorisation: 8800061

Famille: Produits Phytopharmaceutiques (Produit de référence)

Formulation: LIQ. FUMIGATION

Composition de la spécialité:

1,3-dichloropropène 1179. G/L

Phrases de risque/prudence/toxicologie:

Phrase de Prudence	Y	VOIR ARRETES APPROPRIES SUR LES CLASSEMENTS ET L'ETIQUETAGE POUR LES CONSEILS DE PRUDENCE
Phrase de Risque	R10	INFLAMMABLE
	R25	TOXIQUE EN CAS D'INGESTION
	R20/21	NOCIF PAR INHALATION ET PAR CONTACT AVEC LA PEAU
	R43	PEUT ENTRAINER UNE SENSIBILISATION PAR CONTACT AVEC LA PEAU
	R36/37/38	IRRITANT POUR LES YEUX, LES VOIES RESPIRATOIRES ET LA PEAU
	R50/53	TRES TOXIQUE POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES, PEUT ENTRAINER DES EFFETS NEFASTES A LONG TERME POUR L'ENVIRONNEMENT AQUATIQUE.
Risque de Toxicologie	T	TOXIQUE
	N	dangereux pour l'environnement

Dose	Unité	Usage	Date réf.	Max appli. (j)	DAR	IZNT	Délai commerc. util.
475.000 L/HA		AGRUMES * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours							
475.000 L/HA		ANANAS * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours							
475.000 L/HA		BANANIER * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours							
140.000 L/HA		BETTERAVES * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours							
475.000 L/HA		CANNE A SUCRE * TRAITEMENT DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours							
160.000 L/HA		CULTURES LEGUMIERES * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours							
220.000 L/HA		OEILLET * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours							
160.000 L/HA		OIGNON * TRAIT. DU SOL * NEMATODES SP	06/11/1998				
475.000 L/HA		PECHER * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours							
160.000 L/HA		POMME DE TERRE * TRAIT. DU SOL * NEMATODE DORE	20/07/2009				
Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours							
160.000 L/HA		POMME DE TERRE * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours							
475.000 L/HA		POMMIER * TRAIT. DU SOL * NEMATODES				20/07/2009	
Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours							
475.000 L/HA		PRUNIER * TRAIT. DU SOL * NEMATODES				20/07/2009	
Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours							
475.000 L/HA		ROSIER * TRAIT. DU SOL * NEMATODES				20/07/2009	
Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours							
160.000 L/HA		TOMATE * TRAIT. DU SOL * NEMATODES				06/11/1998	
475.000 L/HA		VIGNE * TRAIT. DU SOL * NEMATODES				20/07/2009	
Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours							

Légende:

- : Usage autorisé
- : Usage autorisé provisoirement
- : Usage retiré
- : Usage refusé



Intrant: MOCAP 10 G RP

Société: AVENTIS CROPS SCIENCE FRANCE C/O BAYER CROPS SCIENCE FRANCE SAS

Numéro d'autorisation: 8300436

Famille: Produits Phytopharmaceutiques (Produit de référence)

Formulation: GRANULES

Composition de la spécialité:

Ethoprophos 10. %

Phrases de risque/prudence/toxicologie:

Phrase de Prudence	Y	VOIR ARRETES APPROPRIES SUR LES CLASSEMENTS ET L'ETIQUETAGE POUR LES CONSEILS DE PRUDENCE
Phrase de Risque	R25	TOXIQUE EN CAS D'INGESTION
	R27	TRES TOXIQUE PAR CONTACT AVEC LA PEAU



Risque de Toxicologie T+ TRES TOXIQUE

Commentaires associés à la spécialité:

"Renouvellement décennal des AMM des usages listés dans la présente décision sur la base des articles 21 du décret du 5 mai 1994 et 20 de l'arrêté du 6 septembre 1994 au motif que TRANSFERT

Dose	Unité	Usage	Date réf.	Max appli. (j)	DAR	IZNT	Délai commerc. util.
200.000 KG/HA		ANANAS * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	06/02/2004				
45.000 G/PIED		BANANIER * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	06/02/2004				
sans		CULTURES LEGUMIERES * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	06/02/2004				
sans		CULTURES LEGUMIERES * TRAIT. DU SOL * TAUPINS	06/02/2004				
100.000 KG/HA		POMME DE TERRE * TRAIT. DU SOL * NEMATODE DORE	06/02/2004				
60.000 KG/HA		POMME DE TERRE * TRAIT. DU SOL * TAUPINS(EN PLEIN)	06/02/2004				
sans		TOMATE * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	06/02/2004				

Légende:

- : Usage autorisé
- : Usage autorisé provisoirement
- : Usage retiré
- : Usage refusé



Intrant: NEMATHORIN

Société: ISK BIOSCIENCES EUROPE S.A.

Numéro d'autorisation: 2010426

Famille: Produits Phytopharmaceutiques (Revente)

Formulation: GRANULES

Composition de la spécialité:

Fosthiazate 100. G/KG

Fosthiazate 100. G/KG

Spécialité identique à:

● 9600199 NEMATHORIN 10 G (Produit de référence)

Phrases de risque/prudence/toxicologie:

Phrase de Prudence	Y	VOIR ARRETES APPROPRIES SUR LES CLASSEMENTS ET L'ETIQUETAGE POUR LES CONSEILS DE PRUDENCE
Phrase de Risque	R22	NOCIF EN CAS D'INGESTION
	R43	PEUT ENTRAINER UNE SENSIBILISATION PAR CONTACT AVEC LA PEAU
	R50/53	TRES TOXIQUE POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES, PEUT ENTRAINER DES EFFETS NEFASTES A LONG TERME POUR L'ENVIRONNEMENT AQUATIQUE.

Risque de Toxicologie	Xn	NOCIF
-----------------------	----	-------



N	dangereux pour l'environnement
---	--------------------------------

Commentaires associés à la spécialité:

LMR provisoire fosthiazate pomme de terre = 0,05 mg/kg et DAR = 120 jours.

LMRt Fosthiazate sur banane : 0,05 mg/kg et DAR : 70 j, 1 application

Dose	Unité	Usage	Date réf.	Max appli. (j)	DAR	IZNT	Délai commerc. util.
● 20.000 G/PIED		BANANIER * TRAIT. DU SOL * CHARANCON	01/12/2008	1	3		
● 20.000 G/PIED		BANANIER * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	01/12/2008	1	3		

Légende:

- : Usage autorisé
- : Usage autorisé provisoirement
- : Usage retiré
- : Usage refusé



Intrant: NEMATHORIN 10 G

Société: ISK EUROPE HEADQUARTERS - BIOSCIENCES DIV.

Numéro d'autorisation: 9600199

Famille: Produits Phytopharmaceutiques (Produit de référence)

Formulation: GRANULES

Composition de la spécialité:

Fosthiazate 100. G/KG

Fosthiazate 100. G/KG

Spécialité identique à:

● 2010426 NEMATHORIN (Revente)

Phrases de risque/prudence/toxicologie:

Phrase de Prudence Y VOIR ARRETES APPROPRIES SUR LES CLASSEMENTS ET L'ETIQUETAGE POUR LES CONSEILS DE PRUDENCE

Phrase de Risque R22 NOCIF EN CAS D'INGESTION
R43 PEUT ENTRAINER UNE SENSIBILISATION PAR CONTACT AVEC LA PEAU
R50/53 TRES TOXIQUE POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES, PEUT ENTRAINER DES EFFETS NEFASTES A LONG TERME POUR L'ENVIRONNEMENT AQUATIQUE.

Risque de Toxicologie Xn NOCIF



N dangereux pour l'environnement

Dose	Unité	Usage	Date réf.	Max appli. (j)	DAR	IZNT	Délai commerc. util.	Délai util.
● 20.000 G/PLANT		BANANIER * TRAIT. DU SOL * CHARANCON	01/12/2008	1	3			
● 20.000 G/PLANT		BANANIER * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	01/12/2008	1	3			
● 30.000 KG/HA		POMME DE TERRE * TRAIT. DU SOL * NEMATODE DORE	01/12/2008	1	120			
● 20.000 KG/HA		POMME DE TERRE * TRAIT. DU SOL * TAUPINS(EN PLEIN)	01/12/2008	1	120			

Légende:

● : Usage autorisé

● : Usage autorisé provisoirement

● : Usage retiré

● : Usage refusé



Intrant: TELONE 2000

Société: DOW AGROSCIENCES S.A.S

Numéro d'autorisation: 8700737



Famille: Produits Phytopharmaceutiques (Produit de référence)

















Formulation: LIQ. FUMIGATION

Composition de la spécialité:





1,3-dichloropropène 1179. G/L

Phrases de risque/prudence/toxicologie:

Phrase de Prudence	Y	VOIR ARRETES APPROPRIES SUR LES CLASSEMENTS ET L'ETIQUETAGE POUR LES CONSEILS DE PRUDENCE
Phrase de Risque	R10	INFLAMMABLE
	R25	TOXIQUE EN CAS D'INGESTION
	R20/21	NOCIF PAR INHALATION ET PAR CONTACT AVEC LA PEAU
	R43	PEUT ENTRAINDER UNE SENSIBILISATION PAR CONTACT AVEC LA PEAU
	R36/37/38	IRRITANT POUR LES YEUX, LES VOIES RESPIRATOIRES ET LA PEAU
	R50/53	TRES TOXIQUE POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES, PEUT ENTRAINDER DES EFFETS NEFASTES A LONG TERME POUR L'ENVIRONNEMENT AQUATIQUE.
 Risque de Toxicologie	T	TOXIQUE
	N	dangereux pour l'environnement

Dose	Unité	Usage	Date réf.	Max appli. (j)	DAR	IZNT	Délai commerc. util.
 475.000 L/HA		AGRUMES * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
<i>Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours</i>							
 475.000 L/HA		ANANAS * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
<i>Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours</i>							
 475.000 L/HA		BANANIER * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
<i>Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours</i>							
 140.000 L/HA		BETTERAVES * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
<i>Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours</i>							
 475.000 L/HA		CANNE A SUCRE * TRAITEMENT DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
<i>Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours</i>							
 160.000 L/HA		CULTURES LEGUMIERES * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
<i>Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours</i>							
 220.000 L/HA		OEILLET * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
<i>Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours</i>							
 160.000 L/HA		OIGNON * TRAIT. DU SOL * NEMATODES SP	02/04/1998				
 475.000 L/HA		PECHER * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
<i>Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours</i>							
 160.000 L/HA		POMME DE TERRE * TRAIT. DU SOL * NEMATODE DORE	20/07/2009				
<i>Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours</i>							
 160.000 L/HA		POMME DE TERRE * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
<i>Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours</i>							
 475.000 L/HA		POMMIER * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
<i>Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours</i>							
 475.000 L/HA		PRUNIER * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
<i>Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours</i>							
 475.000 L/HA		ROSIER * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
<i>Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours</i>							
 160.000 L/HA		TOMATE * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	02/04/1998				
 475.000 L/HA		VIGNE * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	20/07/2009				
<i>Vu l'article R253-50 du code rural, autorisation de mise sur le marché et utilisation pour une durée de 120 jours</i>							

Légende:

-  : Usage autorisé
-  : Usage autorisé provisoirement
-  : Usage retiré
-  : Usage refusé



Intrant: **VYDATE L**

Société: DUPONT SOLUTIONS (FRANCE) S.A.S.

Numéro d'autorisation: 8700447

Famille: Produits Phytopharmaceutiques (Produit de référence)

Formulation: CONCENTRE SOLUBLE

Composition de la spécialité:

Oxamyl 240. G/L

Phrases de risque/prudence/toxicologie:

Phrase de Prudence Y VOIR ARRETES APPROPRIES SUR LES CLASSEMENTS ET L'ETIQUETAGE POUR LES CONSEILS DE PRUDENCE

Phrase de Risque R25 TOXIQUE EN CAS D'INGESTION
R26 TRES TOXIQUE PAR INHALATION
AQUADANGEREUX POUR LES ORGANISMES AQUATIQUES.

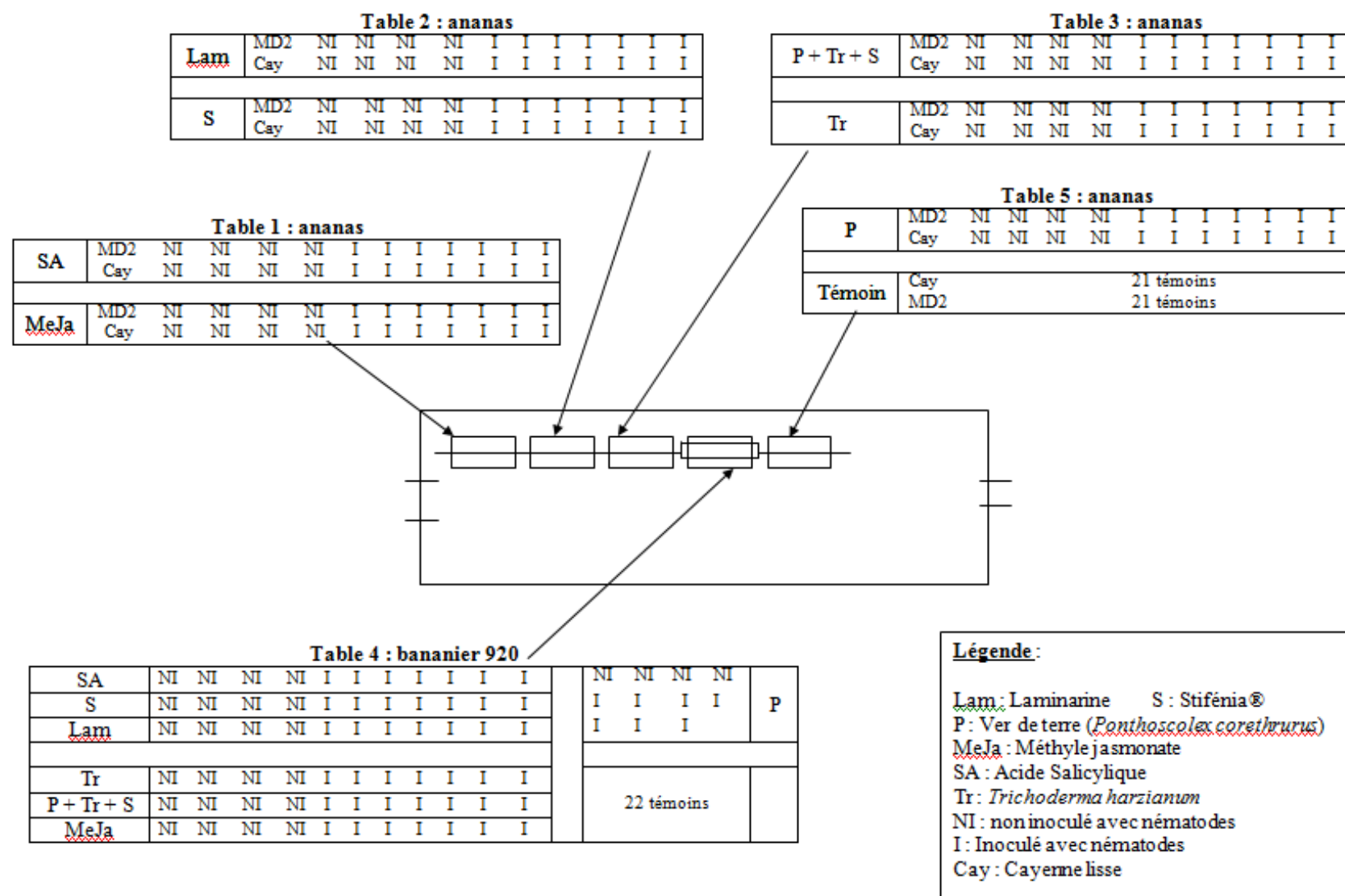


Risque de Toxicologie T+ TRES TOXIQUE

	Dose	Unité	Usage	Date réf.	Max appli. (j)	DAR	IZNT	Délai commerc. util.	Délai
☒	0.008	L/Q	BANANIER * TRAIT. DU SOL * CHARANCON	04/04/2003					
☒	0.008	L/PIED	BANANIER * TRAIT. DU SOL * NEMATODES	04/04/2003					

Légende:

- ☒ : Usage autorisé
- ☒ : Usage autorisé provisoirement
- ☒ : Usage retiré
- ☒ : Usage refusé



Annexe VII : Protocole d'extraction de nématodes par aspersion (Chambre à brouillard)

I. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode permet d'extraire les nématodes des tissus végétaux.

Avec cette méthode, les nématodes sont parfaitement préservés et vivants donc plus facile à identifier et peuvent être utilisés pour d'autres usages : fixation, ré infestation. Cette technique demande du temps, les résultats finaux ne sont pas obtenus avant 15 jours.

II. PRINCIPE DE LA METHODE

Par l'action d'un brouillard d'eau sur un échantillon à analyser, les nématodes présents vont sortir d'eux-mêmes de cet échantillon, et seront ainsi récupérés.

III. MOYENS EMPLOYES

a. Le matériel

- balance
- Boîtes de pétri (12 cm de diamètre)
- Bulleur
- Cellule de comptage de 5 ml
- Chambre à brouillard
- Couteaux, planche à découper
- Etuve
- Filtres de cellulose (Kleenex)
- Microscope ou loupe binoculaire
- Passoire à grosse maille
- Pipette
- Pissette à eau
- Quelques bécards de 250 cm³
- Quelques bouts de tuyaux plastiques 10 cm de longueur environ
- Quelques entonnoirs en plastique
- Quelques flacons en plastiques de 500 ml
- Quelques tamis artisanaux à grosse maille (PVC et toile moustiquaire, à fabriquer selon modèle)
- Quelques tubes de comptage gradués (25, 50, 100 ml)
- Trompe à vide

b. Processus opératoire

1- Technique

- Placer les racines dans la passoire et les laver à l'eau (jet puissant) pour les débarrasser de la terre adhérente. Découper les racines en petits morceaux d'environ 1 cm de longueur sur la planche à découper. Laver les morceaux de racines dans la passoire à l'eau courante en prenant la précaution de ne pas perdre les petites racines et bien

homogénéiser l'ensemble. Sur un tamis à toile de moustiquaire, peser un poids convenu de racines (de 20 à 40g en fonction de la taille des racines)

- Placer ce tamis sur un entonnoir équipé à son extrémité d'un tuyau d'une dizaine de cm. Placer l'ensemble du dispositif sur le flacon de 500 ml équipé d'un trop plein de surface sur le support adapté dans la chambre à brouillard (1 minute de brouillard, 2 minutes de ressuyage).
- Au bout de 10 jours, on récupère le flacon contenant la suspension avec son numéro d'échantillon.
- Après 2 heures de sédimentation, on pompe délicatement le trop-plein des flacons à l'aide d'une trompe à vide et la suspension de nématodes (inférieure en volume à 100 ml) est transférée directement dans un tube de comptage.
- En fonction de la limpidité de la suspension de nématodes, une filtration sur filtre de cellulose sera ou non envisagée. Pour ce faire, le contenu du tube sera délicatement renversé au dessus d'un tamis à grosse maille (PVC et toile moustiquaire) qui sert en fait de support à une double épaisseur de tissus de cellulose. Le tamis est ensuite posé au dessus d'un couvercle de boîte de Pétri et laissé au repos afin de récupérer les nématodes vivants dans une solution propre et limpide.
- Au bout de 24 heures, on récupère la solution dans un tube gradué à (100, 50, 25 ml) avant de procéder au comptage sur un aliquote de la solution à la dilution désirée.

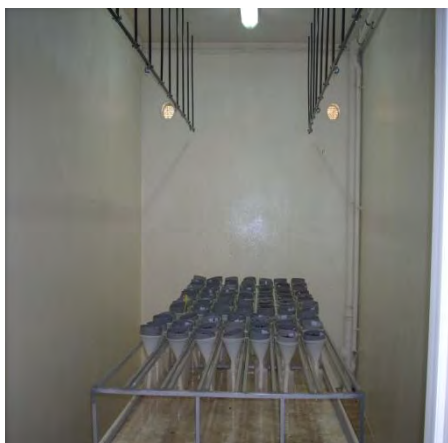
2- Comptage

- Mettre un bulleur dans le tube pour remettre en suspension les nématodes
- Prélever 5 ml de cette suspension avec une pipette ; Mettre dans une cellule de comptage de 5 ml
- Compter tous les nématodes présents dans la cellule soit au microscope ou à la loupe.

c. Expression des résultats

Appliquer le facteur de dilution 20, 10 ou 5. On peut ainsi après calcul rapporter le nombre de nématode par gramme de racines fraîches.

d. Commentaires - Remarques



Chambre à brouillard



Echantillon

Annexe VIII : Protocole d'extraction de nématodes sur gaine de terre (ananas)

I. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

Ce mode opératoire permet de déterminer les différentes étapes de l'extraction de nématodes sur gaine de terre, culture d'ananas.

II. PRINCIPE DE LA METHODE

Récupération des nématodes contenus dans la terre qui entoure les racines après arrachage du plan. La plupart des nématodes de l'ananas sont des ectoparasites et des semi-endoparasites (les femelles matures de *Rotylenchulus* n'ont que le cou engagé dans les racines).

III. MOYENS EMPLOYES

a. Le matériel

- Pelle-bêche
- Couteaux
- Sacs plastique de 10 L
- Gants
- Etiquettes
- Seaux
- Passoire
- Balance
- Papier type sopalin
- Colonne de tamis (25, 32, 50, 80, 250 microns)
- Godets de centrifugation

b. Processus Opératoire – traitement et préparation de l'échantillon

- Prendre la souche d'ananas, la secouer afin de faire tomber la grosse terre
- Récupérer les racines avec la gaine de terre puis les peser
- Mettre les racines dans une passoire posée sur un seau les laver soigneusement pour libérer la gaine de terre
- Répéter l'opération sur plusieurs seaux si nécessaire, jusqu'à l'obtention d'une eau presque claire
- Sécher les racines dans du papier type sopalin, les peser (par différence de pesée on obtiendra le poids de la gaine de terre pour les calculs)
- Faire passer le surnageant des différents seaux, en commençant par celui le moins chargé en terre sur une colonne de tamis rangés de bas en haut (25, 32, 50, 80, 250 microns)
- Récupérer le contenu des tamis 80, 50, 32, et 250 dans un godet de centrifugation
- Sur le godet procéder à une extraction de nématodes par centrifugation flottaison

c. les calculs :

Le comptage est fait sur un volume de 1 ml

L'extraction est faite sur un poids de terre **P** obtenu par la différence de poids en pesant les racines avant et après lavage
La suspension est amenée à **50** ml soit **X** le nombre de nématodes trouvés dans 1 ml
Le nombre **N** de nématodes pour **100** g de gaine de terre est égal à :

$$N = \frac{X \cdot 50}{1 \cdot P} \cdot 100$$

Annexe IX : Protocole d'extraction de nématodes d'un échantillon de racines par centrifugation-flottaison

I. OBJET ET DOMAINE D'APPLICATION

Description des différentes étapes de la méthode d'extraction de nématodes par centrifugation-flottaison [132], dans le but de dénombrer les nématodes contenus dans un échantillon de racine.

III. PRINCIPE DE LA METHODE

Cette méthode a pour principe l'utilisation de la densité des nématodes par rapport à l'eau et à une solution de sulfate de magnésium.

III. MOYENS EMPLOYES

a. Le matériel

- Centrifugeuse avec godets de 250 mL
- Mixer
- Vibro mélangeur
- Batterie de tamis : 250 µm, 80 µm, 50 µm, 32 µm et 5 µm
- Balance
- Planche à découper
- Couteau
- Bechers de 250 mL, 100 mL
- Passoire
- Tubes gradués à 25, 50, 100 mL
- Microscopes
- Loupe binoculaire
- Cellule de comptage
- Densimètre

b. Les réactifs

- Kaolin ref : 24926364 Labover (argile concassé qui sert à contenir les débris végétaux et les nématodes pendant la centrifugation)
- Solution de sulfate de magnésium ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ref 25165361 SP Labover, soit 450 g (plus ou moins 1g) pour un litre d'eau du robinet (à défaut, on peut utiliser du sucre, soit 500g/L plus ou moins 1 g), afin d'obtenir une densité comprise entre 1.15 et 1.20

c. Le matériel

Un contrôle mensuel de la solution de sulfate de magnésium est effectué à l'aide d'un densimètre (densité comprise entre 1.15 et 1.20). Si la densité est inférieure à 1.15 on la réajuste en ajoutant un peu de sulfate de magnésium jusqu'à obtenir la densité voulue.

d. Processus opératoire

1- préparation de l'échantillon

- Laver les racines avec un jet puissant d'eau pour les débarrasser de la terre.
- Sur une planche, découper les racines en petits morceaux d'environ 1 cm de longueur.
- Mettre les morceaux de racines dans une passoire, les laver à l'eau courante pour éliminer toute la terre.
- Bien homogénéiser le lot de racines.
- Prélever dans un petit Becher en plastique un aliquote d'environ 50g de racines. Dans le cas où les échantillons ne peuvent être traités immédiatement, identifier l'échantillon. Conserver au frais.
- Remettre dans le sachet les racines non utilisées, garder environ deux semaines en cas de contrôle.
- Extraction par centrifugation-flottaison.
- Mettre dans le bol du mixer les racines pesées, ajouter 200 mL d'eau du robinet.
- Mixer 2 fois 30 secondes avec un intervalle de 5 secondes entre les 2 broyages.
- Verser le broyat sur une colonne de tamis : de bas en haut 32 μm , 50 μm , 80 μm , 250 μm , tamis préalablement mouillés. Bien rincer le bol du mixer au dessus du tamis de 250 μm .
- Tamiser pendant 2 min avec un jet puissant sans éclabousser le contenu du tamis de 250 μm .
- Jeter le contenu du tamis de 250 μm , puis laver au dessus du tamis de 50 μm (jet très faible), le contenu du tamis de 80 μm , par-dessus et par-dessous, en l'inclinant un peu afin de faire descendre doucement le contenu vers le bas.
- Récupérer le contenu du tamis de 80 μm dans un godet de centrifugation 250 mL, dans lequel on aura mis au préalable 3 cuillères à café de Kaolin.
- Faire de même pour les tamis 50 μm et 32 μm .
- Mettre en suspension à l'aide du Vibro mélangeur.
- Equilibrer précisément avec de l'eau distillée les godets 2 à 2 sur la balance.
- Centrifuger à 3000 tours/min pendant 5 min.
- Jeter le surnageant (eau).
- Ajouter 200 mL de sulfate de magnésium (opérer rapidement car les nématodes supportent mal la pression osmotique du sulfate de magnésium).
- Remettre le culot en suspension avec le Vibro mélangeur.
- Equilibrer précisément les godets 2 à 2 sur la balance avec du sulfate de magnésium.
- Centrifuger à 3000 tours/min pendant 5 min.
- Verser le surnageant sur un tamis de 5 μm préalablement mouillé.

- Laisser le tamis en place quelques minutes pour récupérer le sulfate de magnésium.
- Laver doucement (jet d'eau très faible) par-dessus et par-dessous, le tamis légèrement incliné.
- Récupérer le contenu du tamis (entonnoir) dans un tube gradué de 50 mL, à l'aide d'une pissette d'eau.

2- Comptage

- Mettre un bulleur dans le tube pour remettre en suspension les nématodes
- Prélever environ 2 ml de cette suspension avec une pipette ; Mettre dans une cellule de comptage de 1 ml
- Compter tous les nématodes présents dans la cellule soit au microscope ou à la loupe.

e. Expression des résultats

Appliquer la formule suivante pour avoir le nombre de nématodes contenus dans 100 g de racines.

$$\frac{\text{Nombre de nématodes} \times \text{volume}}{50 \text{ g de racines}} \times 100$$

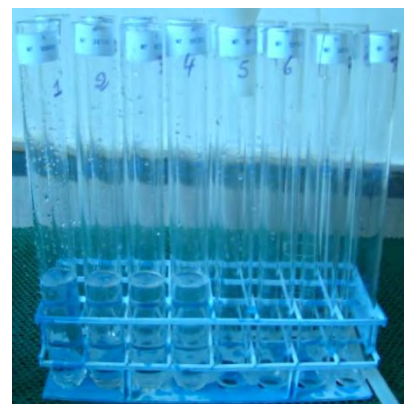
f. Commentaires - Remarques



Réservoir MgSO₄



Récupération tamis dans tube gradué



Tube gradué

Annexe X : Etude statistiques dans R commander

ETUDE STATISTIQUE enzyme BANANE 'CAVENDISH 902' : ESSAI « SPLIT ROOT »

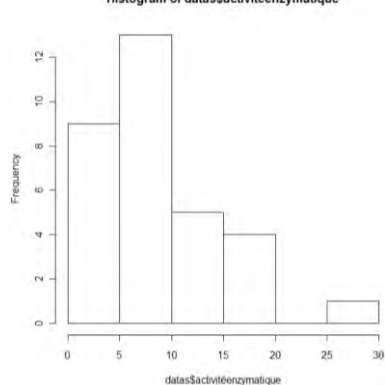
LOX :

```

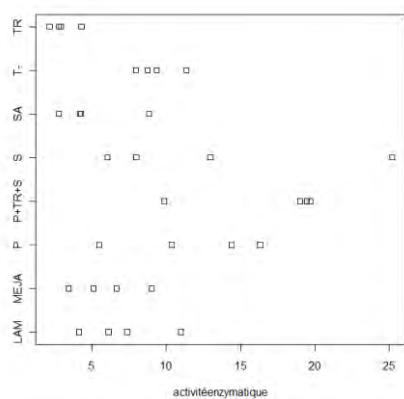
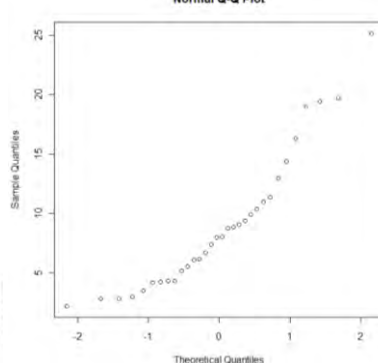
traitement enzyme  répétition activitéenzymatique
LAM      :4      LOX:32  1:8      Min.   : 2.160
MEJA     :4              2:8      1st Qu.: 4.296
P        :4              3:8      Median : 7.980
P+TR+S   :4              4:8      Mean   : 9.042
S        :4              3rd Qu.:11.066
SA       :4              Max.   :25.183
(Other) :8

```

Histogram of datas\$activitéenzymatique



Normal Q-Q Plot



Shapiro-Wilk normality test

```

data:  datas$activitéenzymatique
W = 0.8941, p-value = 0.004386

```

Suit une loi normale

```

      Df Deviance Resid. Df Resid. Dev P(>|Chi|)
NULL              31      1033.27
traitement    7      603.37      24      429.90 2.116e-05 ***
répétition    3       51.91      21      377.99  0.4099
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

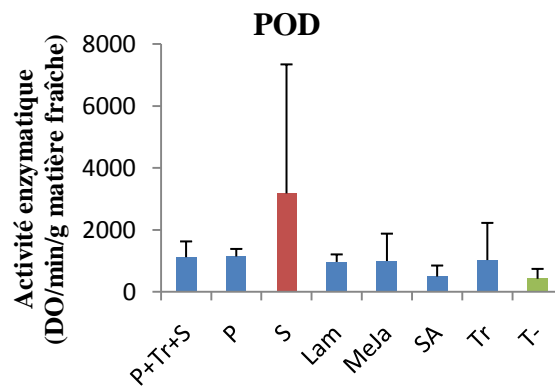
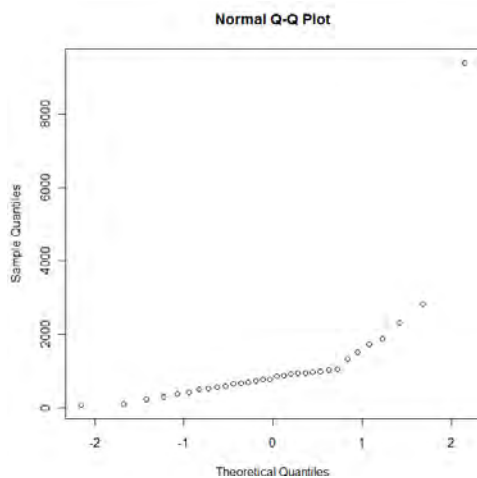
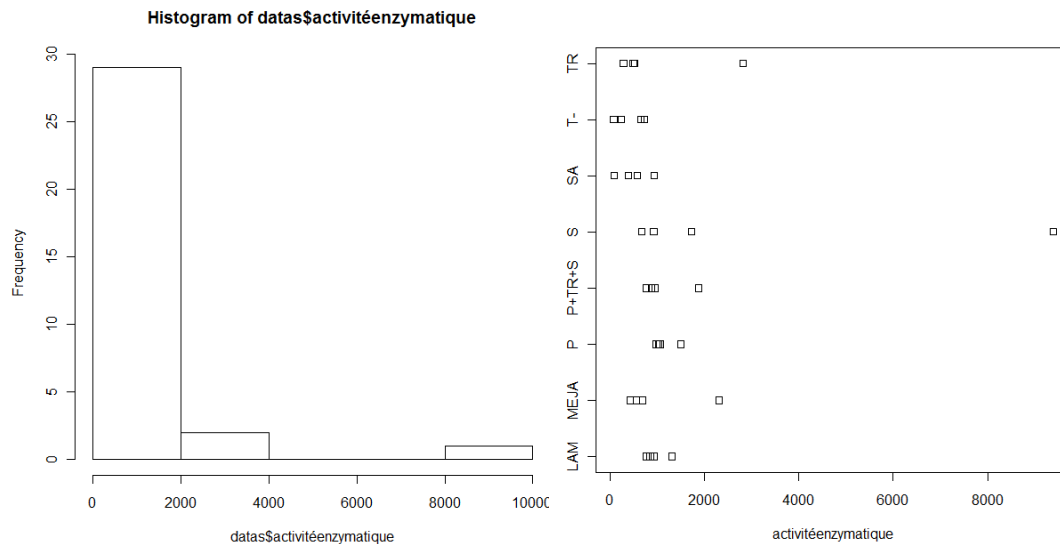
Effet traitement, pas d'effet répétition

POD :

```

      traitement enzyme  répétition activitéenzymatique
LAM      :4    POD:32    1:8      Min.   : 79.42
MEJA     :4          2:8      1st Qu.: 553.33
P        :4          3:8      Median : 812.13
P+TR+S   :4          4:8      Mean  :1171.23
S        :4          3rd Qu.:1037.49
SA       :4          Max.   :9391.67
(Other) :8

```



Shapiro-Wilk normality test

```

data: datas$activitéenzymatique
W = 0.4814, p-value = 1.631e-09

```

Suit une loi normale

```

      Df Deviance Resid. Df Resid. Dev P(>|Chi|)
NULL                31    81074968
traitement  7 20579221         24    60495746   0.21147
répétition  3 15548343         21    44947403   0.06393 .
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

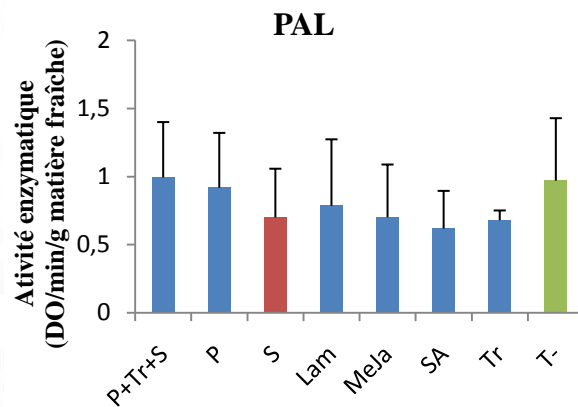
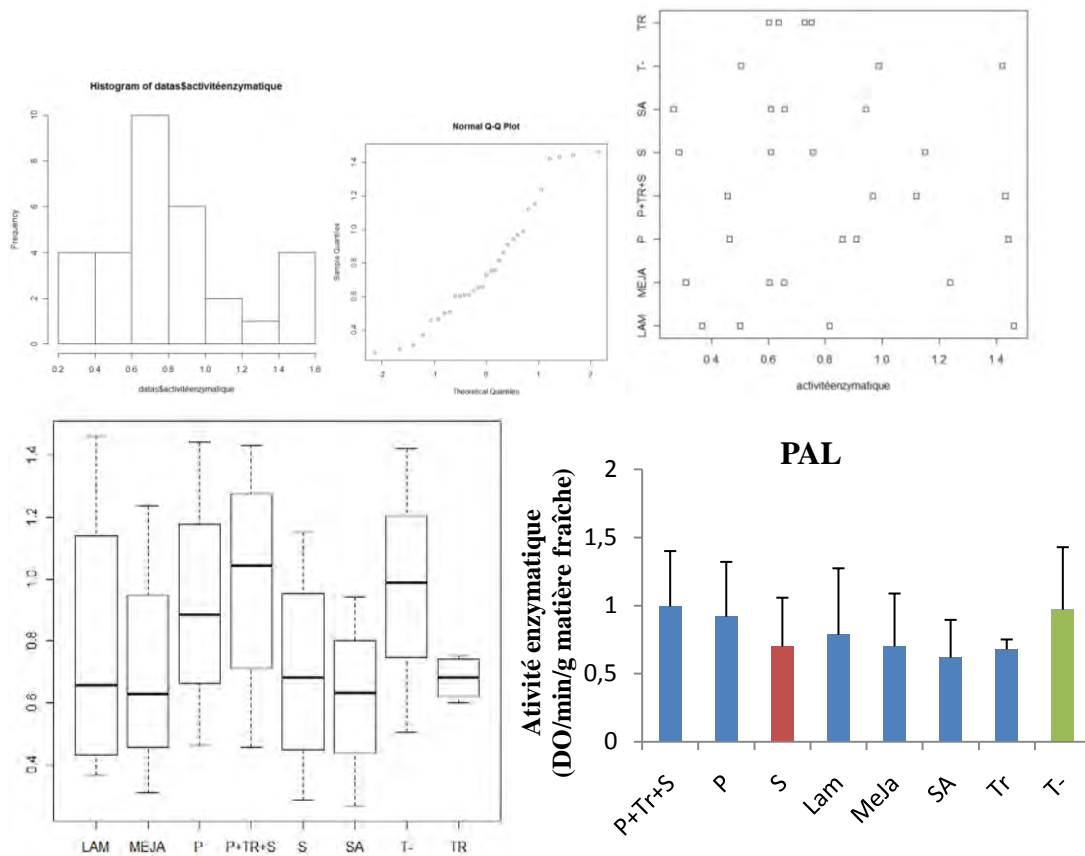
Pas d'effet traitement, pas d'effet répétition.

PAL:

```

traitement enzyme  répétition activitéenzymatique
LAM      :4      PAL:31  1:7      Min.      :0.2670
MEJA     :4      2:8      1st Qu.:0.5525
P        :4      3:8      Median   :0.7286
P+Tr+S   :4      4:8      Mean     :0.7907
S        :4      3rd Qu.:0.9775
SA       :4      Max.     :1.4625
(Other) :7

```



Shapiro-Wilk normality test

```

data: datas$activitéenzymatique
W = 0.9368, p-value = 0.06734

```

Ne suit pas une loi normale

Kruskal-Wallis rank sum test

```

data: activitéenzymatique by traitement
Kruskal-Wallis chi-squared = 3.4105, df = 7, p-value = 0.8446

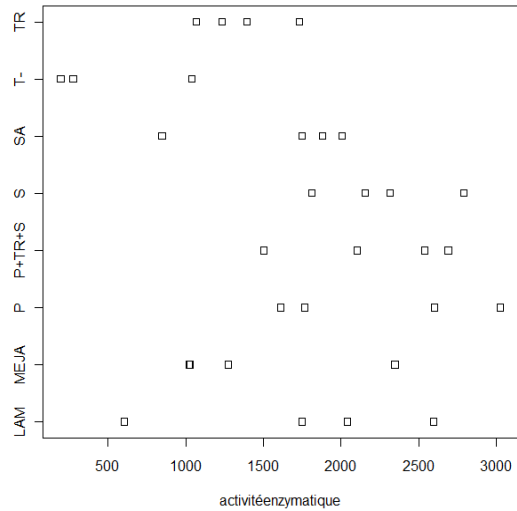
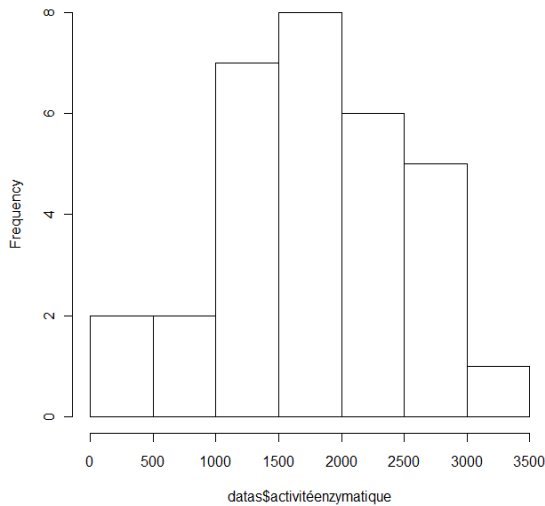
```

Médianes pas différentes

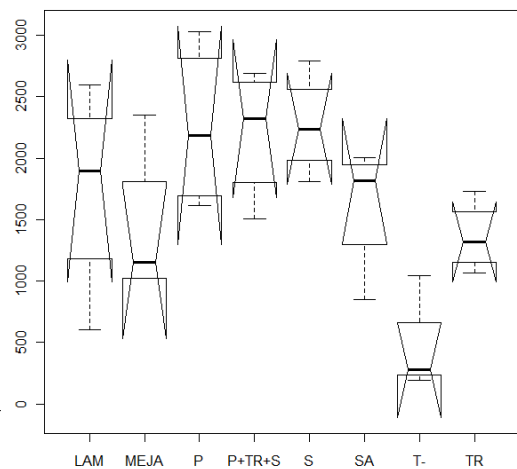
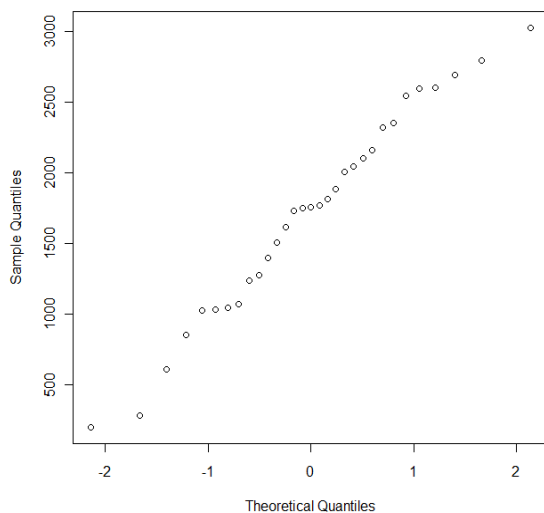
SOD :

traitement	enzyme	répétition	activitéenzymatique
LAM	:4	SOD:31	1:7 Min. : 195.7
MEJA	:4	2:8	1st Qu.:1152.2
P	:4	3:8	Median :1751.5
P+TR+S	:4	4:8	Mean :1710.5
S	:4		3rd Qu.:2238.1
SA	:4		Max. :3025.6
(Other)	:7		

Histogram of datas\$activitéenzymatique



Normal Q-Q Plot



Shapiro-Wilk normality test

```
data: datas$activitéenzymatique
W = 0.9781, p-value = 0.7593
```

Ne suit pas une loi normale

Kruskal-Wallis rank sum test

```
data: activitéenzymatique by traitement
Kruskal-Wallis chi-squared = 15.0887, df = 7, p-value = 0.03488
```

Les médianes sont différentes

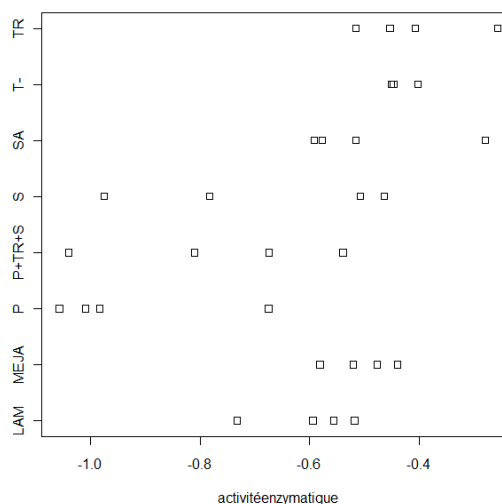
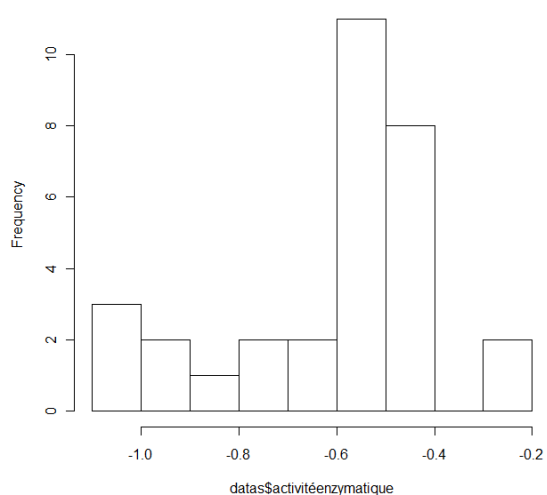
APX :

```

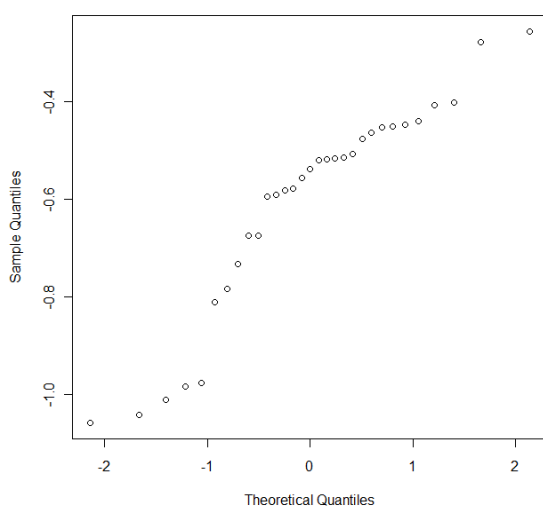
      traitement enzyme  répétition activitéenzymatique
LAM      :4      APX:31   1:7      Min.      :-1.0575
MEJA     :4              2:8      1st Qu.:-0.7037
P        :4              3:8      Median :-0.5386
P+TR+S   :4              4:8      Mean    :-0.6072
S        :4                      3rd Qu.:-0.4582
SA       :4                      Max.     :-0.2560
(Other):7

```

Histogram of datas\$activitéenzymatique



Normal Q-Q Plot



Shapiro-Wilk normality test

```

data:  datas$activitéenzymatique
W = 0.9011, p-value = 0.007665

```

Suit une loi normale

```

              Df Deviance Resid. Df Resid. Dev P(>|Chi|)
NULL                  30    1.43257
traitement    7  0.89134      23    0.54123 1.741e-05 ***
répétition    3  0.01653      20    0.52470   0.8895
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Effet traitement, pas d'effet répétition

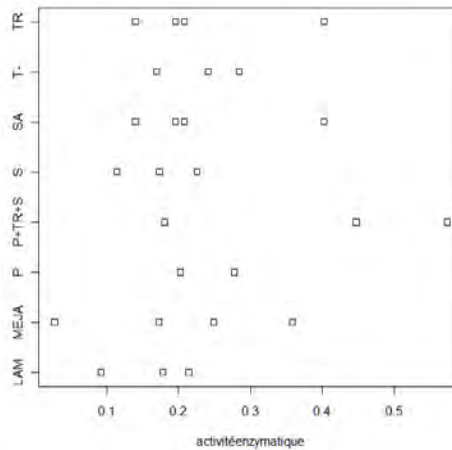
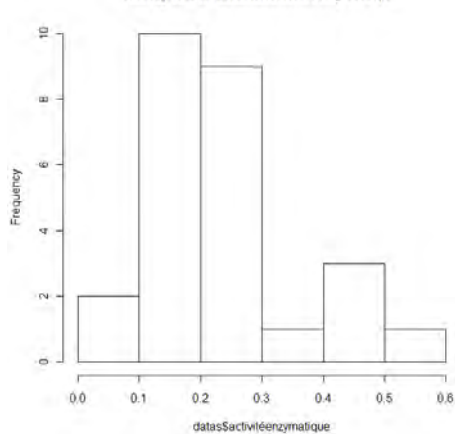
GST:

```

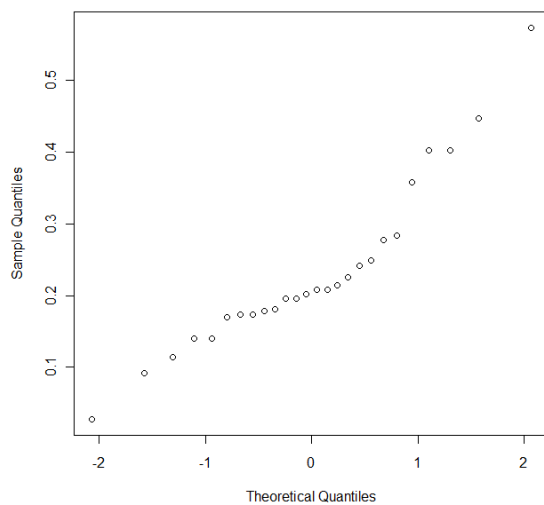
traitement enzyme  répétition activitéenzymatique
MEJA :4 GST:26 1:7 Min. :0.02733
SA :4 2:6 1st Qu.:0.17314
TR :4 3:6 Median :0.20511
LAM :3 4:7 Mean :0.23361
P+TR+S :3 3rd Qu.:0.27036
S :3 Max. :0.57375
(Other):5

```

Histogram of datas\$activitéenzymatique



Normal Q-Q Plot



Shapiro-Wilk normality test

```

data: datas$activitéenzymatique
W = 0.9064, p-value = 0.02183

```

Suit une loi normale

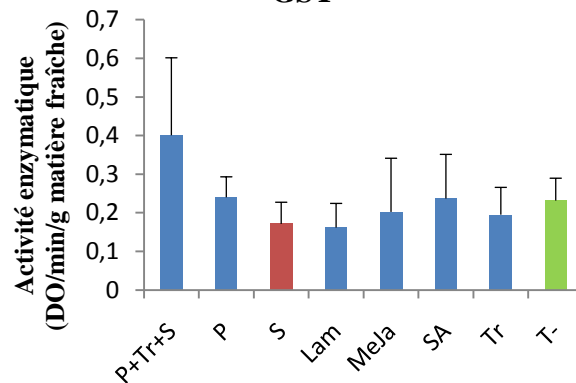
```

      Df Deviance Resid. Df Resid. Dev P(>|Chi|)
NULL                25    0.35606
traitement  7 0.115122    18    0.24093  0.16615
répétition  3 0.075163    15    0.16577  0.07851 .
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

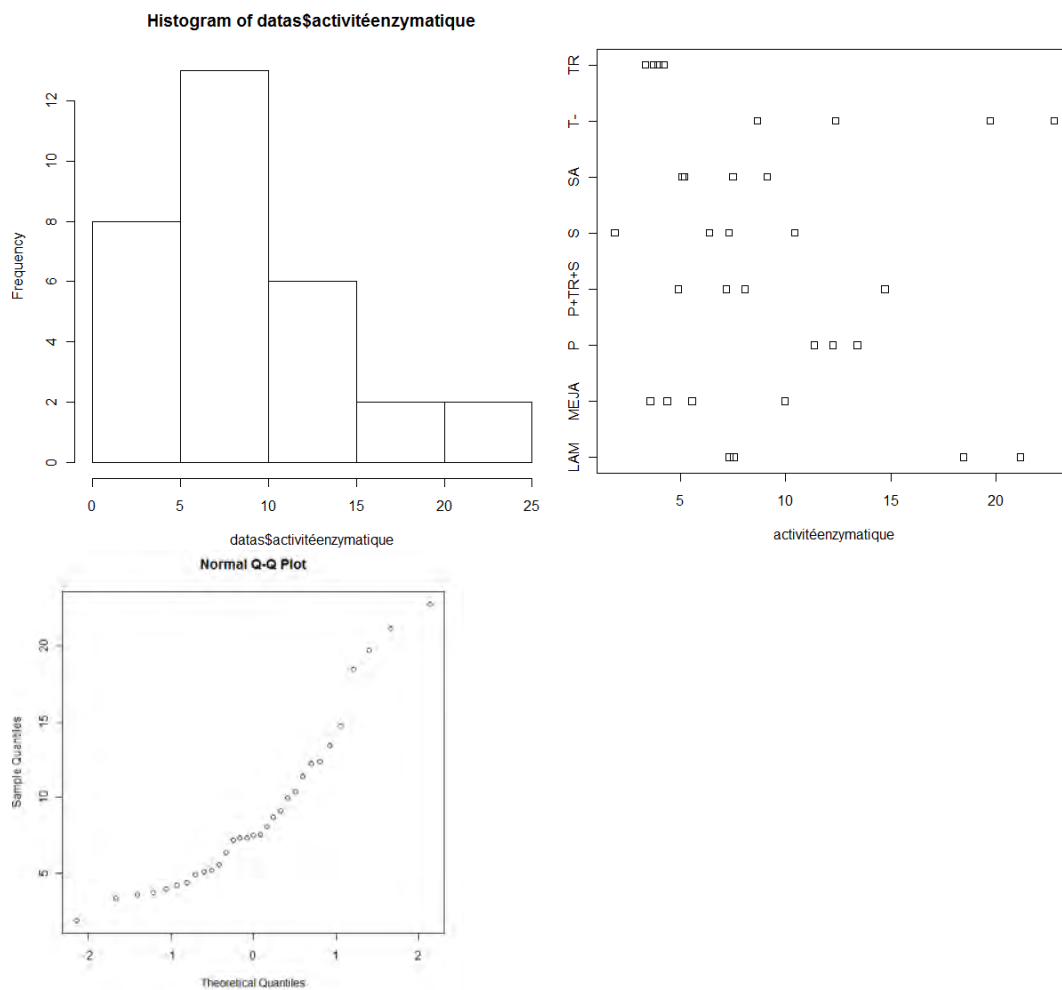
Pas d'effet traitement, pas d'effet répétition.

GST



PPOX :

traitement	enzyme	répétition	activitéenzymatique
LAM :4	PPOX:31	1:8	Min. : 1.891
MEJA :4		2:8	1st Qu.: 4.999
P+TR+S :4		3:7	Median : 7.500
S :4		4:8	Mean : 9.083
SA :4			3rd Qu.:11.814
T- :4			Max. :22.745
(Other):7			



Shapiro-Wilk normality test

```
data: datas$activitéenzymatique
W = 0.8904, p-value = 0.004179
```

Suit une loi normale

	Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	P(> Chi)
NULL			30	911.57	
traitement	7	500.39	23	411.18	0.0001978 ***
répétition	3	56.96	20	354.22	0.3594816

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

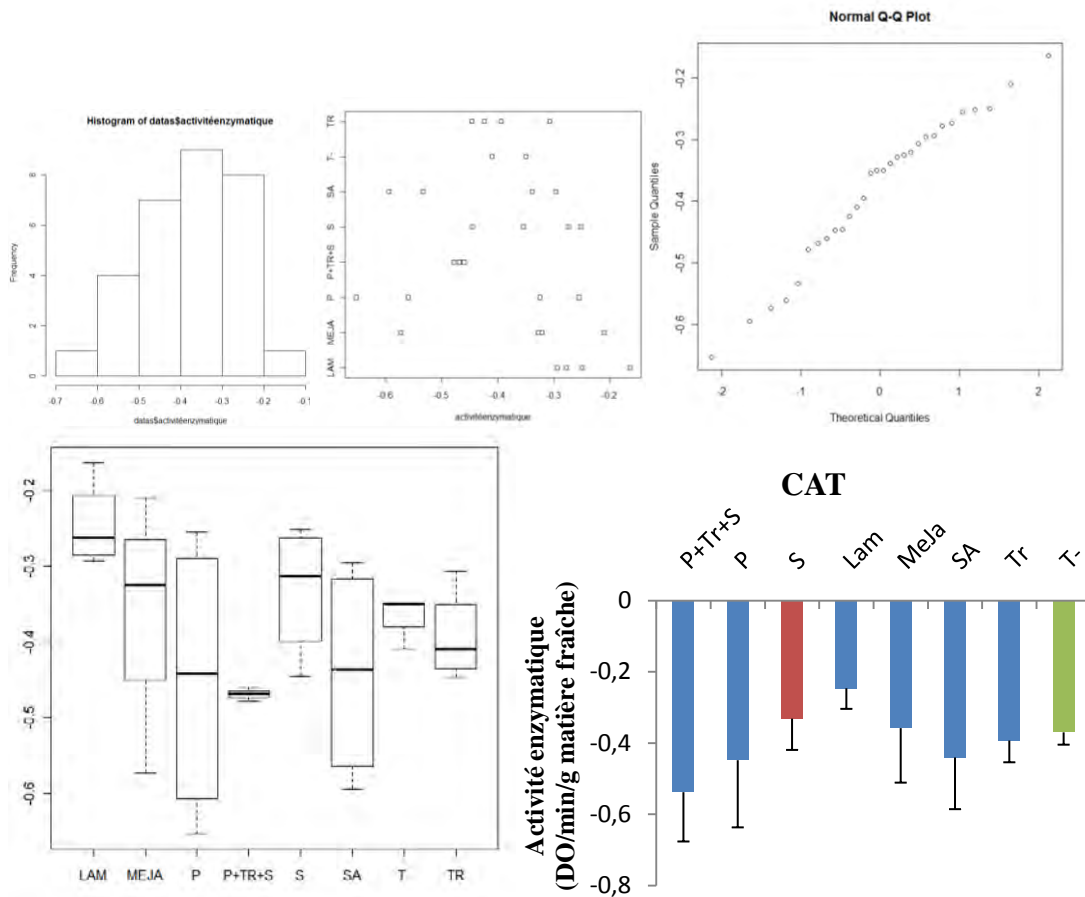
Effet traitement, pas d'effet répétition

CAT:

```

traitement enzyme  répétition activitéenzymatique
LAM      :4      CAT:30  1:7      Min.      :-0.6528
MEJA     :4      2:8      1st Qu.  :-0.4567
P        :4      3:8      Median   :-0.3500
S        :4      4:7      Mean     :-0.3796
SA       :4      3rd Qu. :-0.2944
TR       :4      Max.     :-0.1639
(Other):6

```



Shapiro-Wilk normality test

```

data: data$activitéenzymatique
W = 0.9649, p-value = 0.4112

```

Ne suit pas une loi normale

Kruskal-Wallis rank sum test

```

data: activitéenzymatique by traitement
Kruskal-Wallis chi-squared = 11.1519, df = 7, p-value = 0.1321

```

Médianes pas différentes

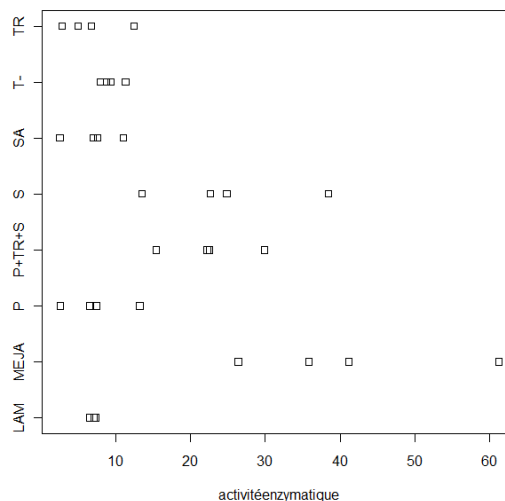
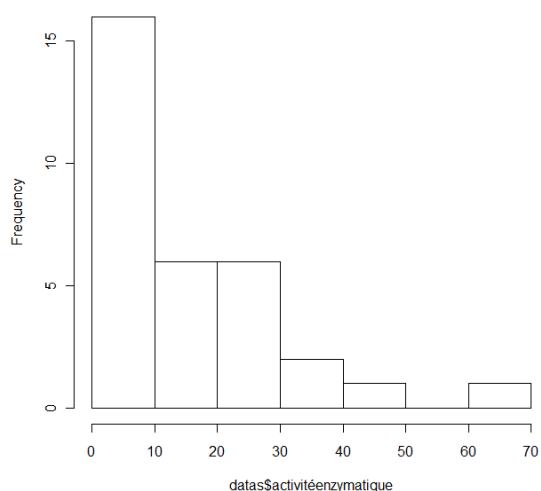
ETUDE STATISTIQUE enzyme BANANIER ‘Cavendish 902’ SERRE : LOX :

```

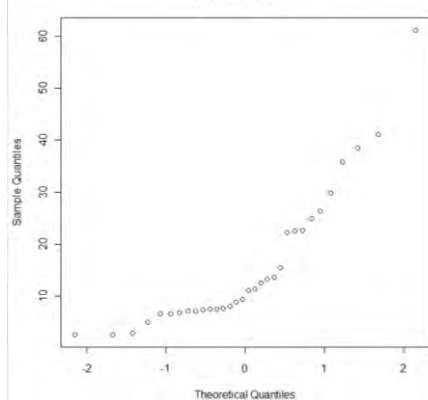
traitement enzyme    répétition activitéenzymatique
LAM      :4    LOX:32    1:8      Min.    : 2.576
MEJA     :4      2:8      1st Qu.: 7.089
P        :4      3:8      Median  :10.201
P+TR+S   :4      4:8      Mean    :15.785
S        :4      3rd Qu.:22.542
SA       :4      Max.    :61.184
(Other) :8

```

Histogram of datas\$activitéenzymatique



Normal Q-Q Plot



Shapiro-Wilk normality test

```

data:  datas$activitéenzymatique
W = 0.8113, p-value = 6.683e-05

```

Suit une loi normale

```

              Df Deviance Resid. Df Resid. Dev P(>|Chi|)
NULL                31      5674.5
traitement    7      4453.8      24      1220.7 4.015e-15 ***
répétition    3       88.6      21      1132.0  0.6493
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Effet traitement, pas d'effet répétition

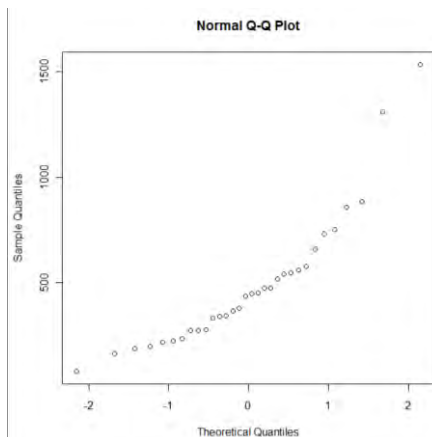
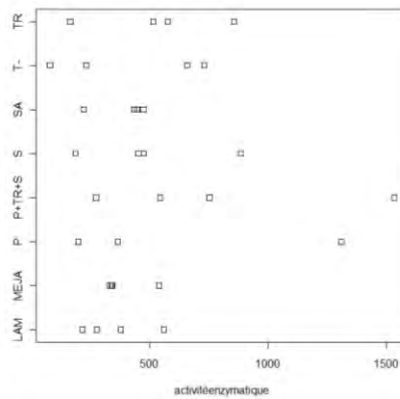
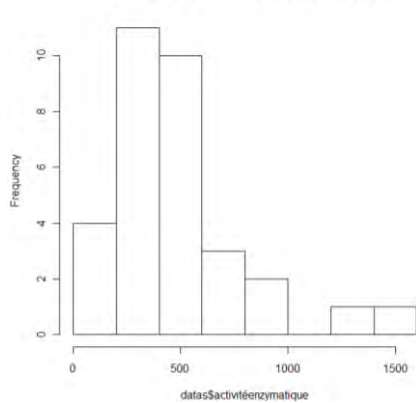
POD :

```

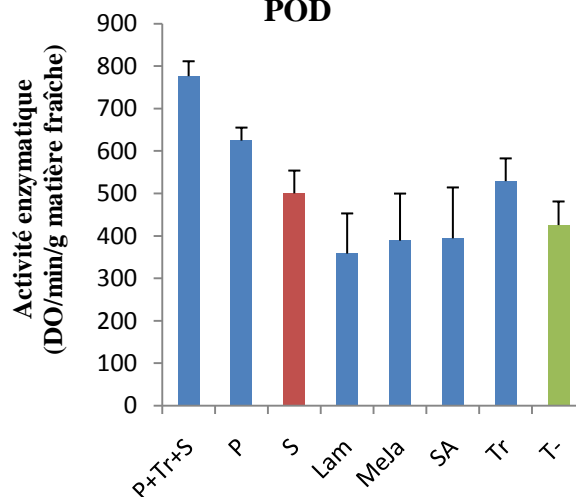
traitement enzyme  répétition activitéenzymatique
P+Tr+S :5      POD:32  1:9      Min.   : 79.42
LAM      :4      2:8      1st Qu.: 273.44
MEJA     :4      3:7      Median : 440.48
S        :4      4:8      Mean    : 488.79
SA       :4      3rd Qu.: 565.35
T-       :4      Max.    :1533.40
(Other) :7

```

Histogram of datas\$activitéenzymatique



POD



Shapiro-Wilk normality test

```

data: datas$activitéenzymatique
W = 0.8515, p-value = 0.0004462

```

Suit une loi normale

```

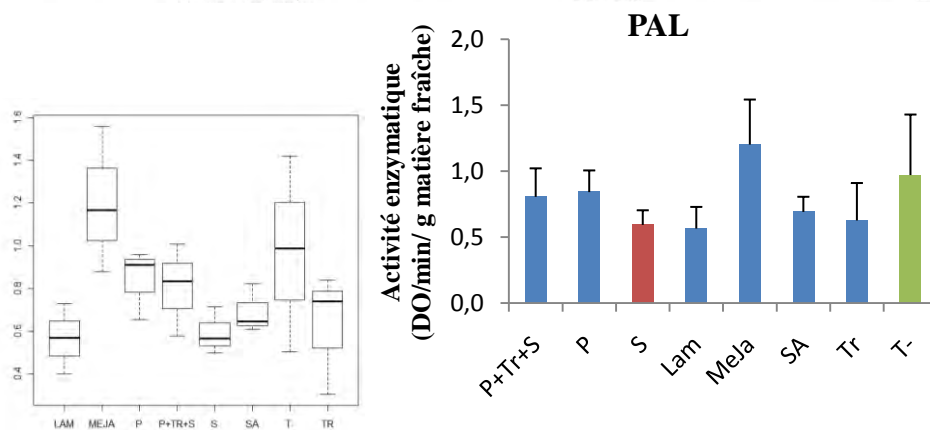
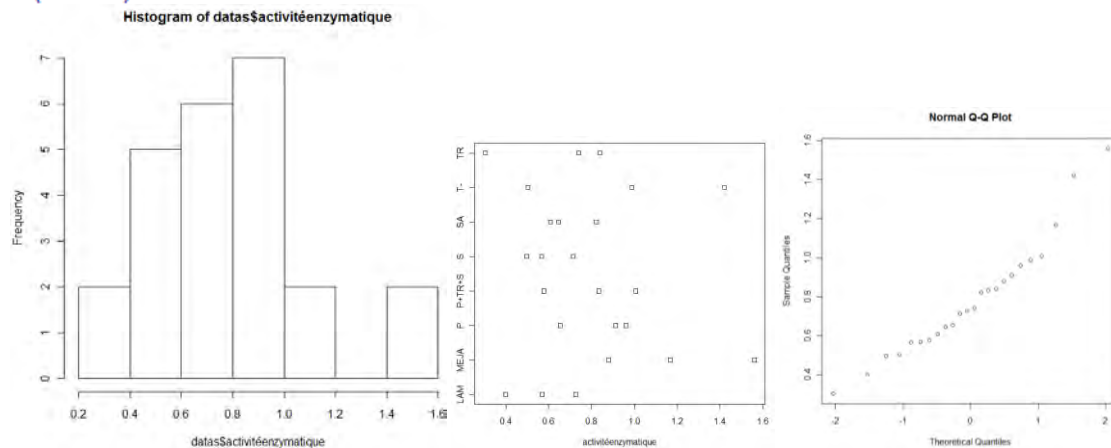
              Df Deviance Resid. Df Resid. Dev P(>|Chi|)
NULL              31      3134198
traitement    7      396979      24      2737220  0.73440
répétition    3      836476      21      1900744  0.02624 *
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Pas d'effet traitement, un effet répétition

PAL:

traitement	enzyme	répétition	activitéenzymatique
LAM	:3	PAL:24	2:8 Min. :0.3044
MEJA	:3	3:8	1st Qu.:0.5756
P	:3	4:8	Median :0.7336
P+TR+S	:3		Mean :0.7875
S	:3		3rd Qu.:0.9240
SA	:3		Max. :1.5600
(Other)	:6		



Shapiro-Wilk normality test

```
data: datas$activitéenzymatique
W = 0.9404, p-value = 0.1664
```

Ne suit pas une loi normale

Kruskal-Wallis rank sum test

```
data: activitéenzymatique by traitement
Kruskal-Wallis chi-squared = 10.72, df = 7, p-value = 0.1513
```

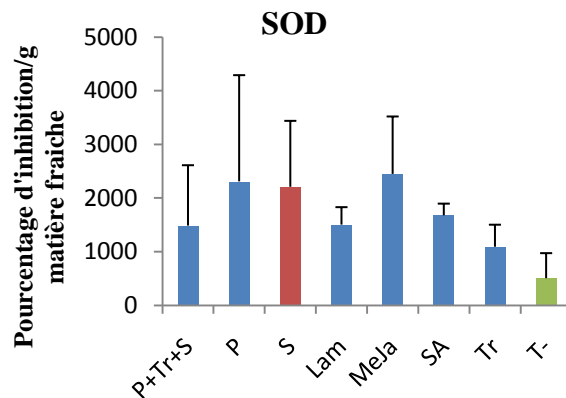
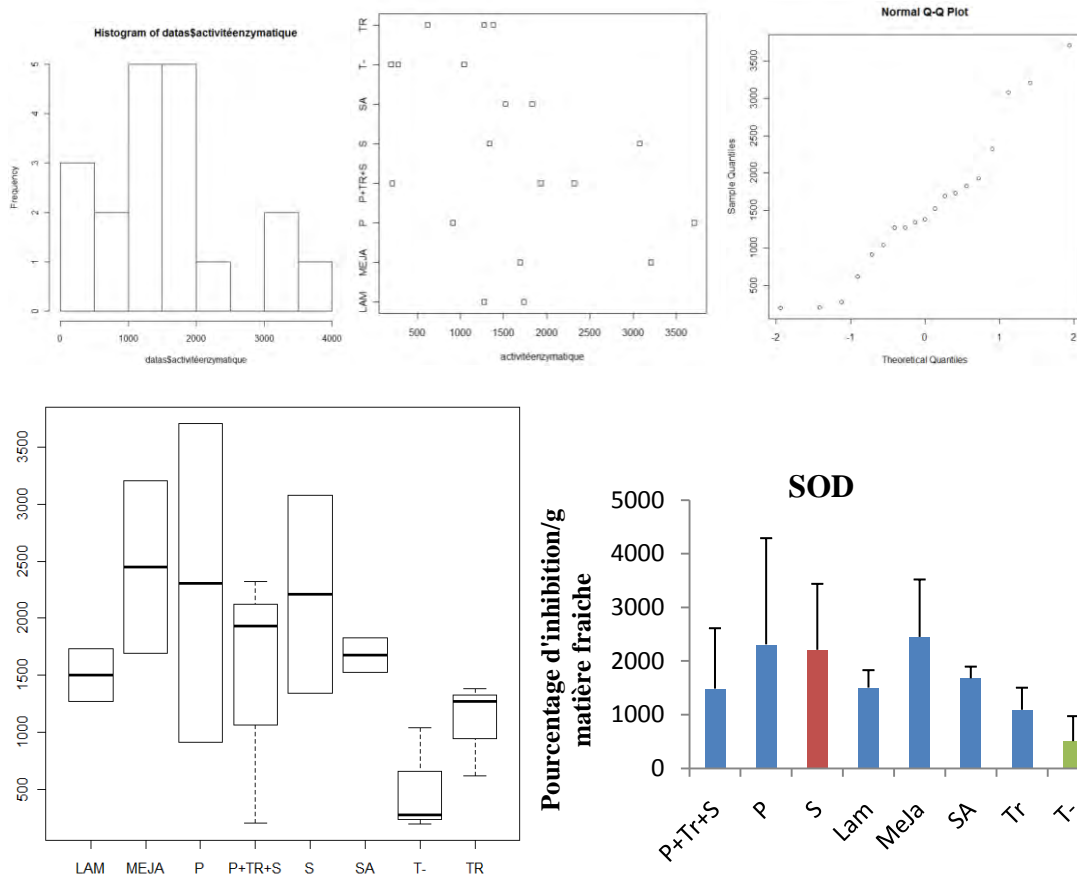
Les médianes ne sont pas différentes

SOD :

```

traitement enzyme    répétition activitéenzymatique
P+Tr+S :3          SOD:19    2:3          Min.   : 195.7
T-       :3          3:8          1st Qu.: 975.4
TR        :3          4:8          Median :1378.4
LAM        :2          Mean    :1554.3
MEJA       :2          3rd Qu.:1880.1
P          :2          Max.    :3710.0
(Other) :4

```



Shapiro-Wilk normality test

```

data: datas$activitéenzymatique
W = 0.9383, p-value = 0.2458

```

Ne suit pas une loi normale

Kruskal-Wallis rank sum test

```

data: activitéenzymatique by traitement
Kruskal-Wallis chi-squared = 7.7737, df = 7, p-value = 0.353

```

Les médianes ne sont pas différentes

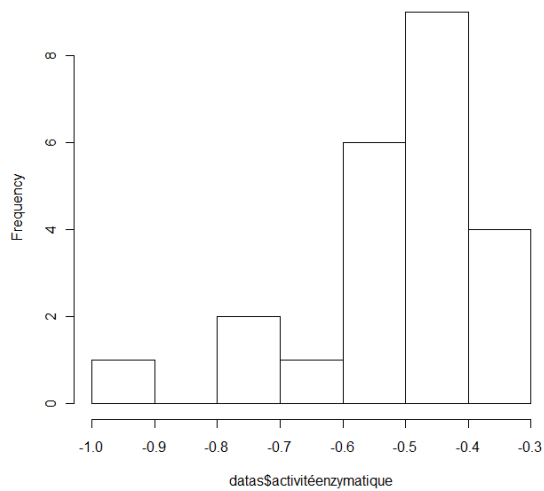
APX:

```

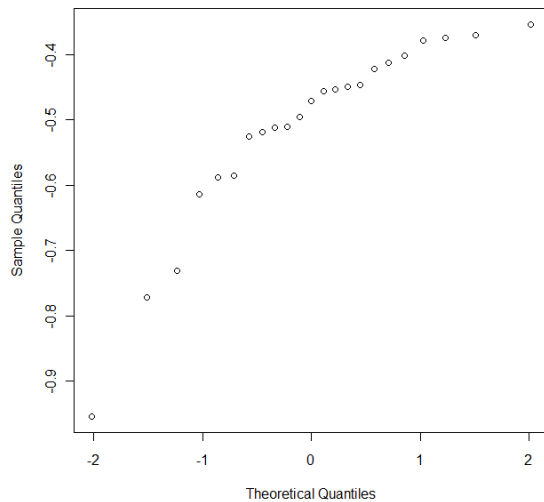
traitement enzyme  répétition activitéenzymatique
LAM :3 APX:23 2:8 Min. :-0.9540
MEJA :3 3:8 1st Qu.: -0.5550
P :3 4:7 Median :-0.4714
P+TR+S :3 Mean :-0.5129
SA :3 3rd Qu.: -0.4175
T- :3 Max. :-0.3540
(Other) :5

```

Histogram of datas\$activitéenzymatique



Normal Q-Q Plot



Shapiro-Wilk normality test

```

data: datas$activitéenzymatique
W = 0.8491, p-value = 0.002617

```

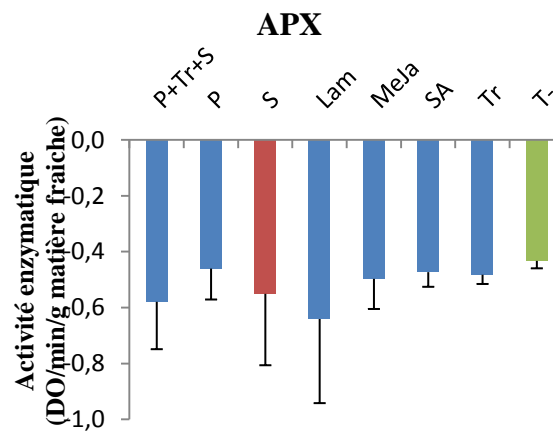
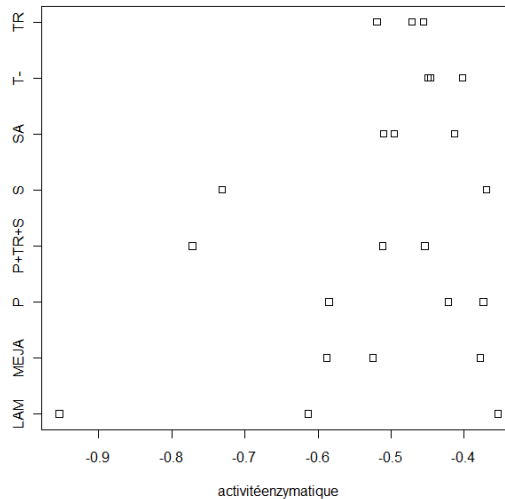
Suit une loi normale

```

      Df Deviance Resid. Df Resid. Dev P(>|Chi|)
NULL      22      0.46145
traitement  7  0.10088      15  0.36057 0.454147
répétition  2  0.16660      13  0.19397 0.003761 **
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

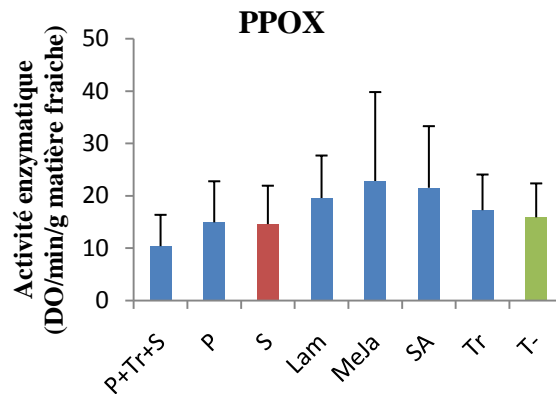
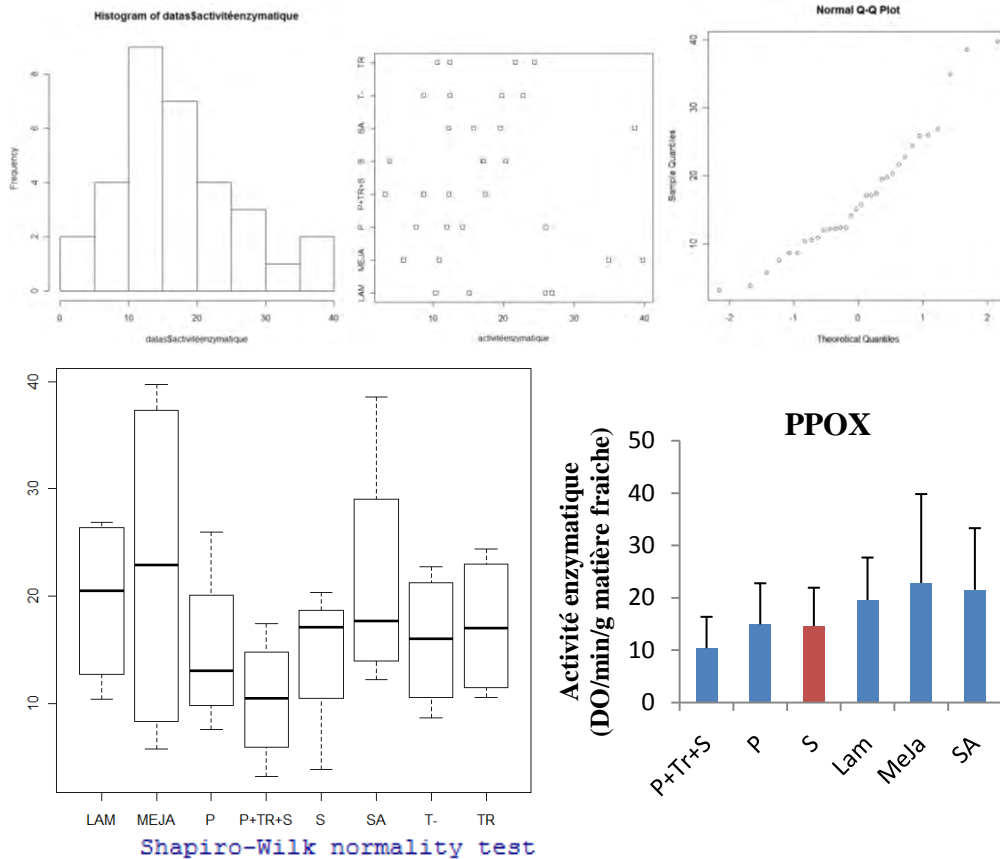
```

Pas d'effet traitement, effet répétition.



PPOX :

traitement	enzyme	répétition	activitéenzymatique
LAM	:4	PPOX:32	1:8 Min. : 3.191
MEJA	:4		2:8 1st Qu.:10.793
P	:4		3:8 Median :15.455
P+TR+S	:4	4:8	Mean :17.114
S	:4		3rd Qu.:21.928
SA	:4		Max. :39.733
(Other)	:8		



```
data: datas$activitéenzymatique
W = 0.9356, p-value = 0.05637
```

Ne suit pas une loi normale

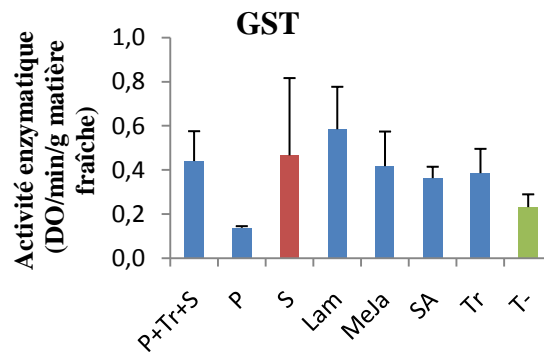
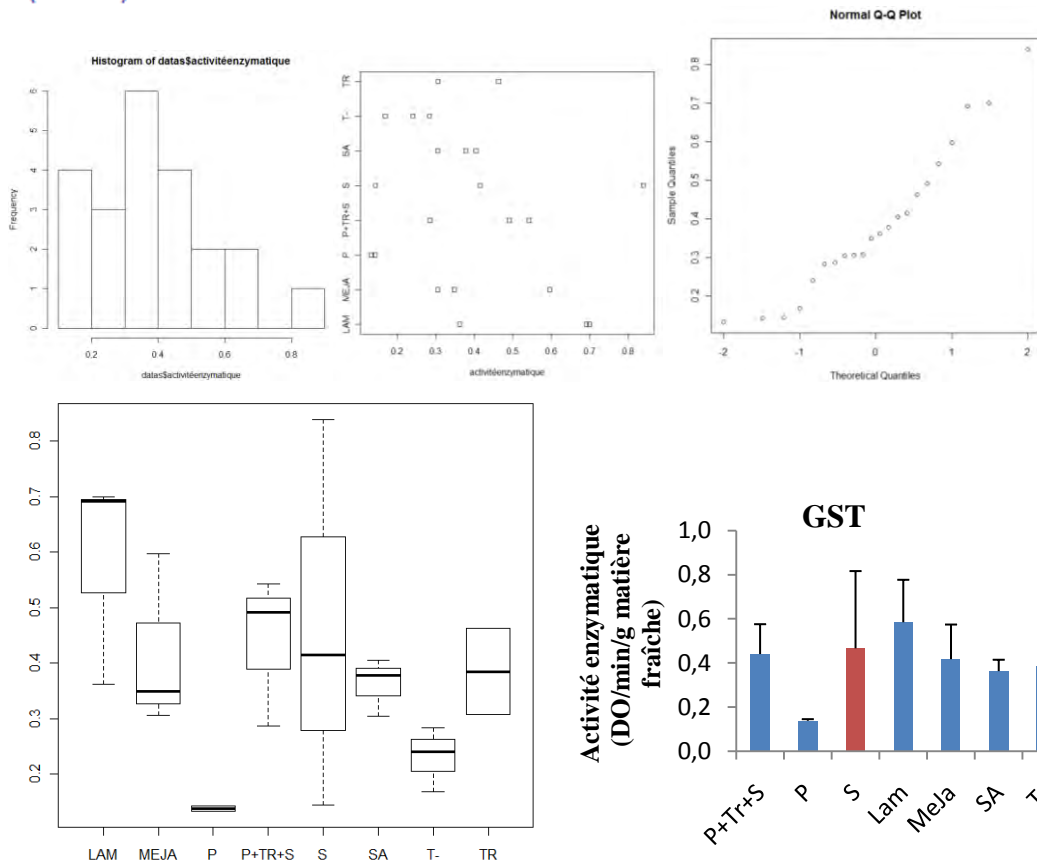
Kruskal-Wallis rank sum test

```
data: activitéenzymatique by traitement
Kruskal-Wallis chi-squared = 3.8239, df = 7, p-value = 0.7998
```

Les médianes ne sont pas différentes

GST:

traitement	enzyme	répétition	activitéenzymatique
LAM	:3	GST:22	1:4 Min. :0.1336
MEJA	:3	2:8	1st Qu.:0.2846
P+TR+S	:3	3:6	Median :0.3556
S	:3	4:4	Mean :0.3888
SA	:3		3rd Qu.:0.4842
T-	:3		Max. :0.8392
(Other)	:4		



Shapiro-Wilk normality test

```
data: datas$activitéenzymatique
W = 0.9394, p-value = 0.1924
```

Ne suit pas une loi normale

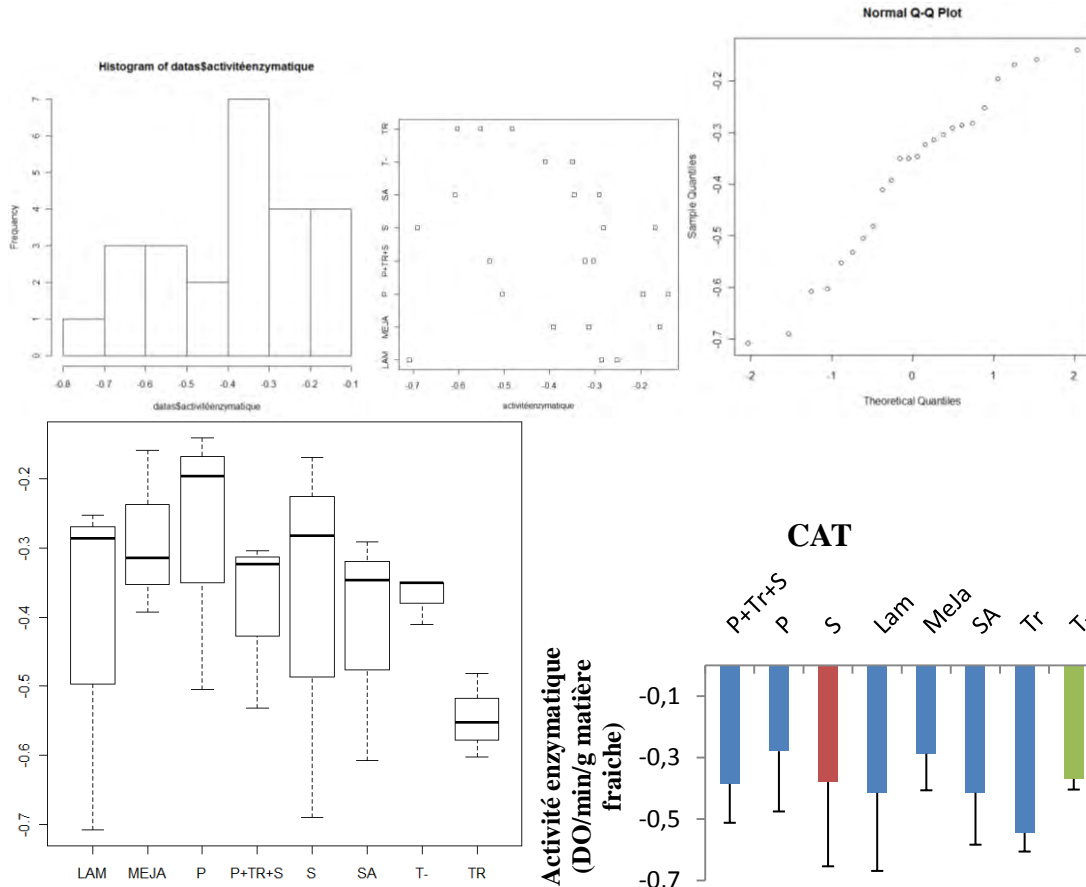
Kruskal-Wallis rank sum test

```
data: activitéenzymatique by traitement
Kruskal-Wallis chi-squared = 11.4071, df = 7, p-value = 0.1218
```

Les médianes ne sont pas différentes

CAT:

traitement	enzyme	répétition	activitéenzymatique
LAM	:3	CAT:24	2:8 Min. :-0.7080
MEJA	:3	3:8	1st Qu.: -0.5110
P	:3	4:8	Median :-0.3480
P+TR+S	:3		Mean :-0.3850
S	:3		3rd Qu.: -0.2850
SA	:3		Max. :-0.1400
(Other)	:6		



Shapiro-Wilk normality test

```
data: datas$activitéenzymatique
W = 0.9462, p-value = 0.2233
```

Ne suit pas une loi normale

Kruskal-Wallis rank sum test

```
data: activitéenzymatique by traitement
Kruskal-Wallis chi-squared = 5.5091, df = 7, p-value = 0.5981
```

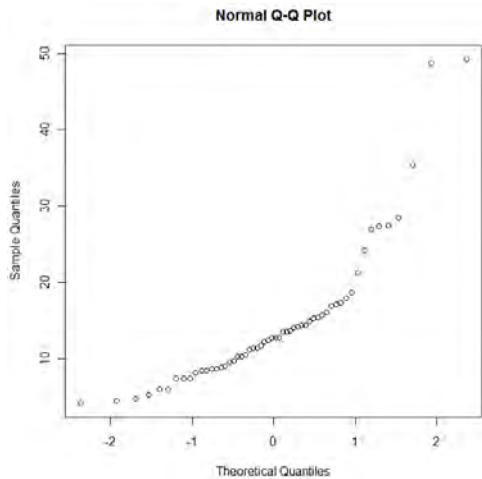
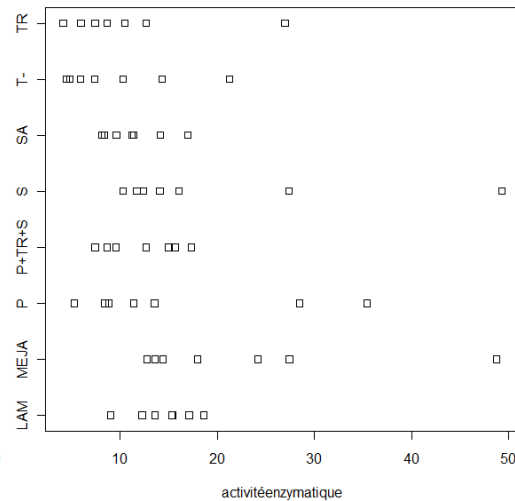
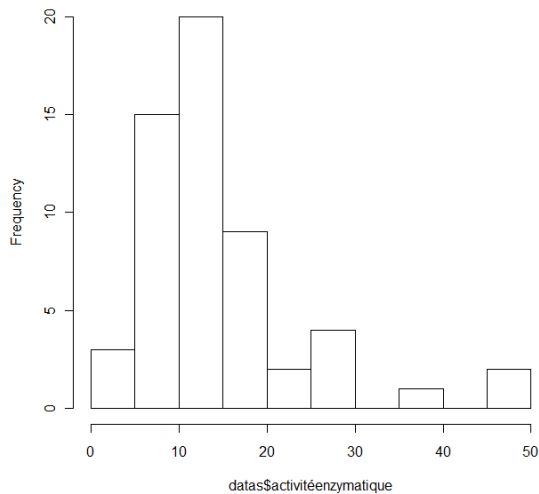
Les médianes ne sont pas différentes

Serre enzyme ANANAS MD2 ET CAY :

LOX :

variété	traitement	enzyme	répétition	activitéenzymatique
CAY:32	LAM : 7	LOX:56	1: 8	Min. : 4.12
MD2:24	MEJA : 7		2:16	1st Qu.: 8.80
	P : 7		3:16	Median :12.70
	P+TR+S : 7		4:16	Mean :14.70
	S : 7			3rd Qu.:16.27
	SA : 7			Max. :49.28
	(Other) :14			

Histogram of datas\$activitéenzymatique



Shapiro-Wilk normality test

```
data: datas$activitéenzymatique
W = 0.7901, p-value = 1.626e-07
```

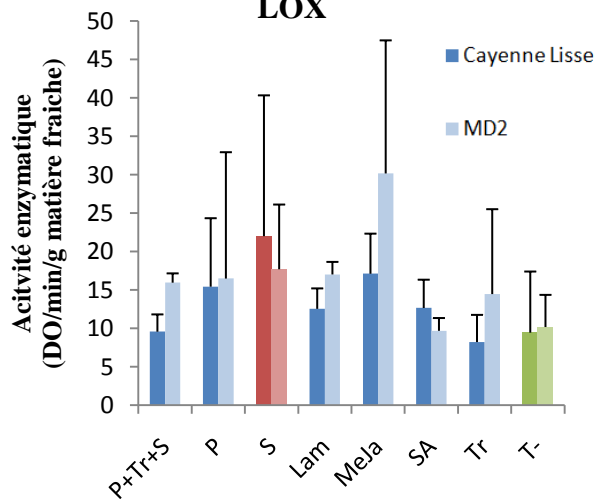
Suit une loi normale

	Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	P(> Chi)
NULL			55	4781.9	
traitement	7	1057.43	48	3724.5	0.06393 .
répétition	3	94.57	45	3629.9	0.75438
variété	1	145.88	44	3484.0	0.17469

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1

Pas d'effet traitement, pas d'effet répétition, pas d'effet variété.

LOX



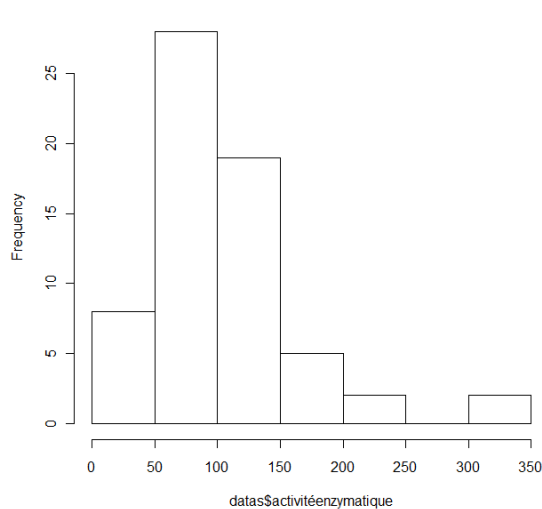
POD :

```

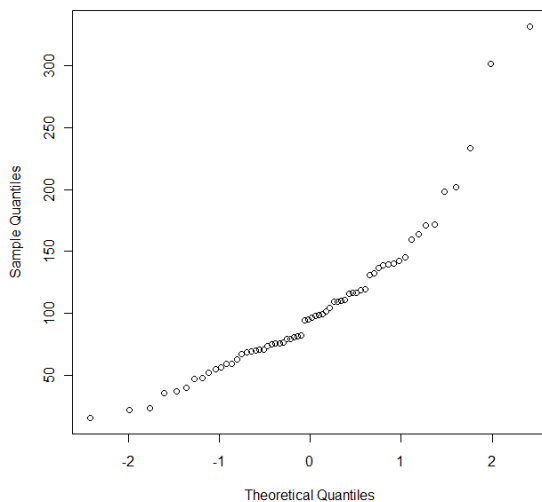
variété      traitement enzyme  répétition activitéenzymatique
CAY:32      LAM      : 8      POD:64  1:16      Min.      : 15.52
MD2:32      MEJA      : 8      2:16      1st Qu.: 69.08
           P      : 8      3:16      Median   : 95.78
           P+TR+S   : 8      4:16      Mean     :104.00
           S      : 8      3rd Qu.:131.38
           SA      : 8      Max.     :331.60
           (Other) :16

```

Histogram of datas\$activitéenzymatique



Normal Q-Q Plot



Shapiro-Wilk normality test

```

data: datas$activitéenzymatique
W = 0.8792, p-value = 1.438e-05

```

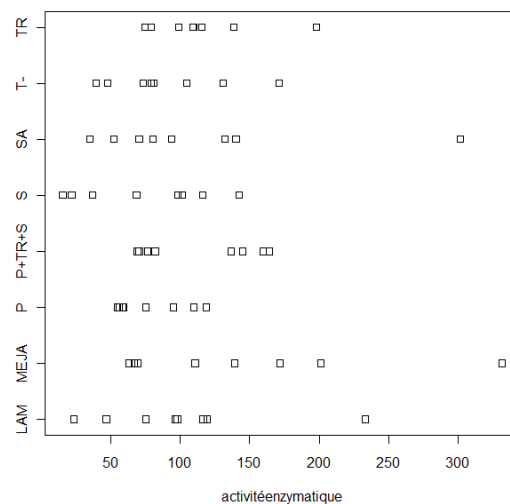
Suit une loi normale

```

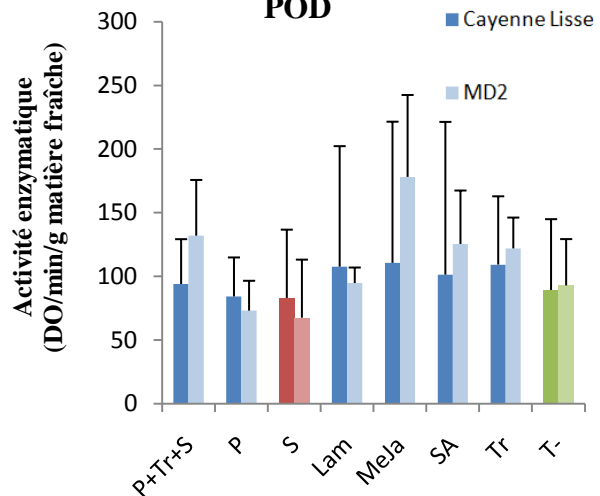
              Df Deviance Resid. Df Resid. Dev P(>|Chi|)
NULL                63    220737
traitement    7      28614      56    192123  0.213199
répétition    3      34098      53    158025  0.009638 **
variété        1       2823      52    155202  0.330798
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Pas d'effet traitement, pas d'effet variété, effet répétition



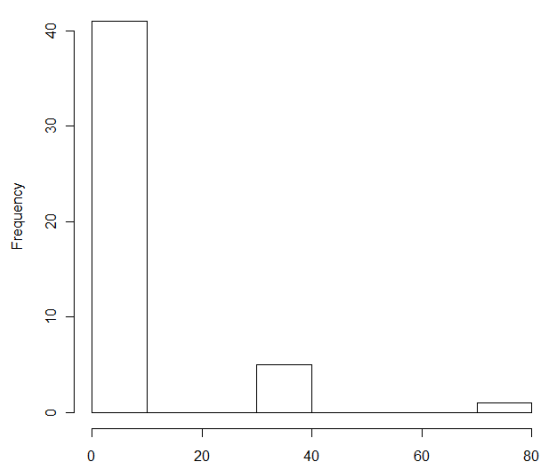
POD



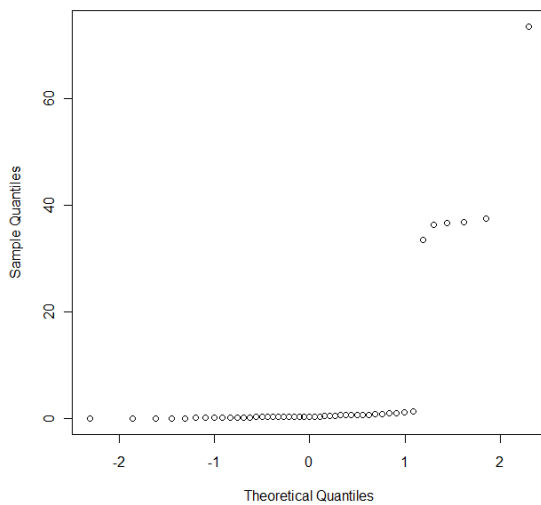
PAL :

variété	traitement	enzyme	répétition	activitéenzymatique
CAY:23	T-	: 8	PAL:47	1:12
				Min. : 0.0160
MD2:24	MEJA	: 6	2: 7	1st Qu.: 0.2104
	P	: 6	3:12	Median : 0.3760
	S	: 6	4:16	Mean : 5.7869
	SA	: 6		3rd Qu.: 0.8128
	LAM	: 5		Max. : 73.4928
	(Other)	:10		

Histogram of datas\$activitéenzymatique



Normal Q-Q Plot



Shapiro-Wilk normality test

```
data: datas$activitéenzymatique
W = 0.4228, p-value = 2.401e-12
```

Suit une loi normale

	Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	P(> Chi)
NULL			46	10375.4	
traitement	7	766.47	39	9608.9	0.770512
répétition	3	1660.30	36	7948.6	0.031523 *
variété	1	1373.63	35	6575.0	0.006849 **

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Pas d'effet traitement, effet variété et effet répétition.

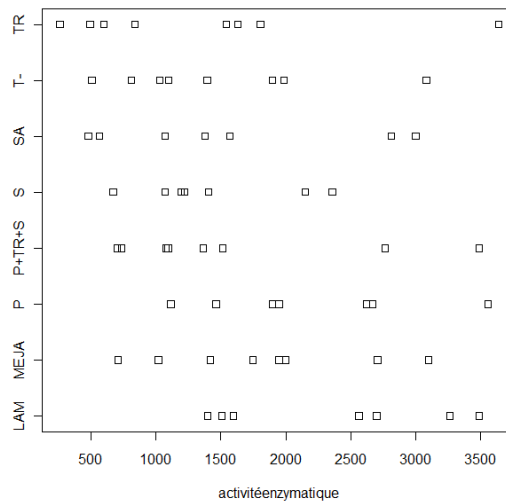
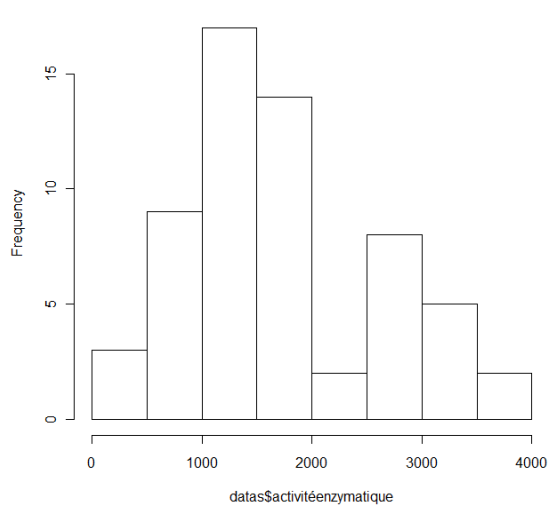
SOD :

```

variété   traitement enzyme  répétition activitéenzymatique
CAY:29    MEJA : 8      SOD:60 1:16      Min. : 261.3
MD2:31    P+TR+S : 8      2:13      1st Qu.:1072.2
          T- : 8          3:15      Median :1511.7
          TR : 8          4:16      Mean :1712.3
          LAM : 7          3rd Qu.:2408.9
          P : 7           Max. :3637.3
          (Other):14

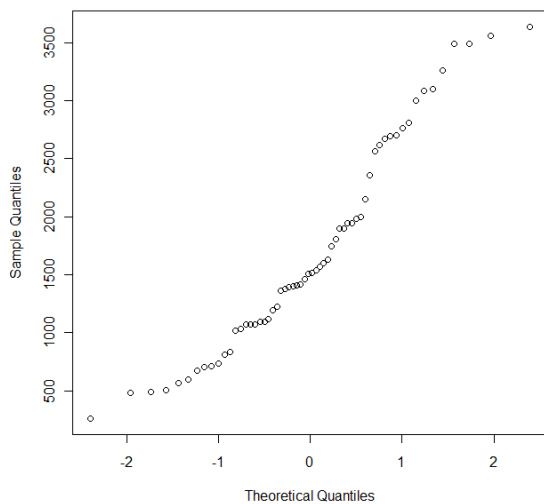
```

Histogram of datas\$activitéenzymatique



SOD

Normal Q-Q Plot



Shapiro-Wilk normality test

```

data: datas$activitéenzymatique
W = 0.9421, p-value = 0.006764

```

Suit une loi normale

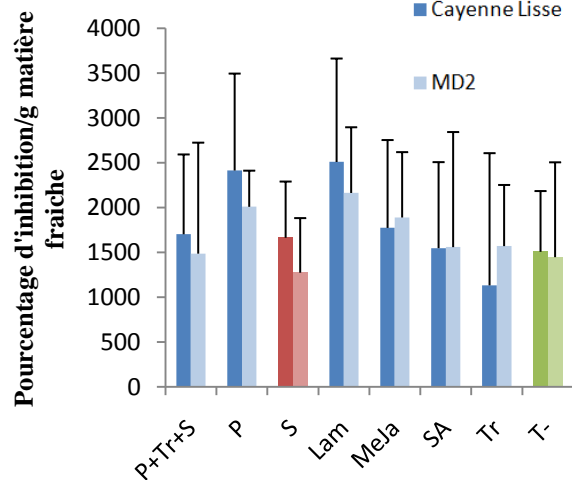
```

Df Deviance Resid. Df Resid. Dev P(>|Chi|)
NULL                    59 48352705
traitement 7 6891228      52 41461477 0.160977
répétition 3 9921820      49 31539657 0.001696 **
variété 1 96348          48 31443309 0.701341
---

```

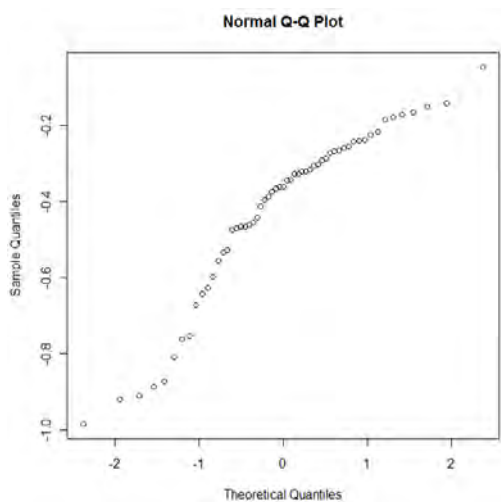
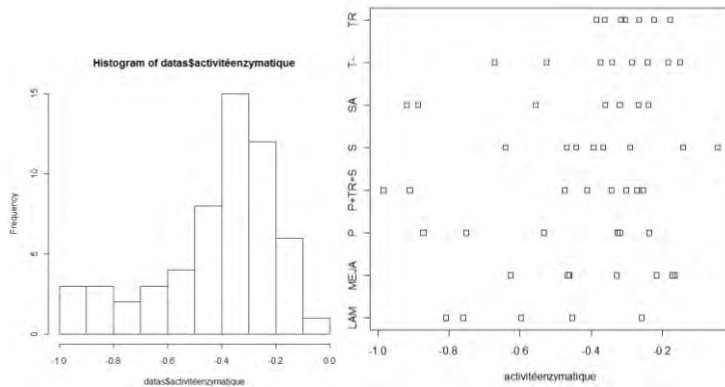
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Effet répétition, pas d'effet traitement, pas d'effet variété



APX:

variété	traitement	enzyme	répétition	activitéenzymatique
CAY:29	MEJA	: 8	APX:57	1:16
MD2:28	P+TR+S	: 8	2:13	Min. :-0.9840
	S	: 8	3:14	1st Qu.:-0.5260
	T-	: 8	4:14	Median :-0.3600
	SA	: 7		Mean :-0.4198
	TR	: 7		3rd Qu.:-0.2660
	(Other)	:11		Max. :-0.0460



Shapiro-Wilk normality test

```
data: datas$activitéenzymatique
W = 0.9113, p-value = 0.0004976
```

Suit une loi normale

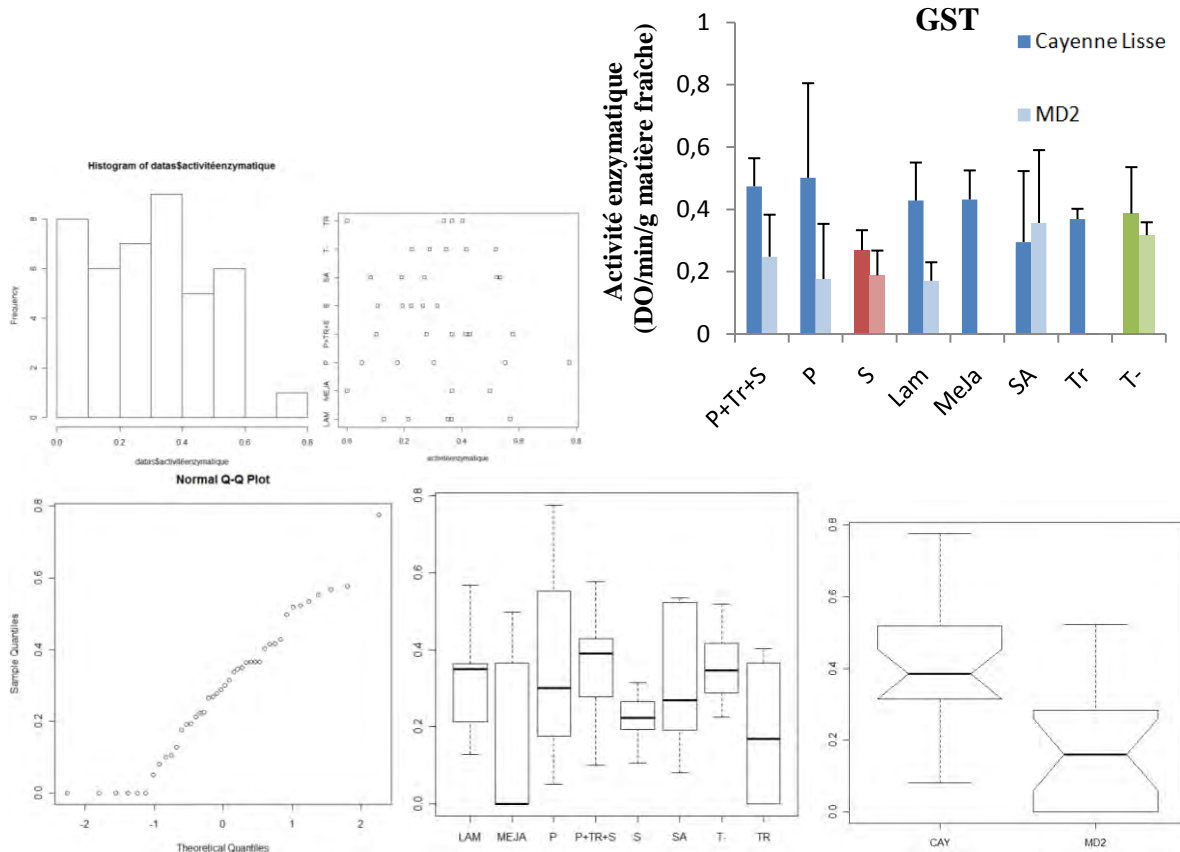
	Df	Deviance	Resid. Df	Resid. Dev	P(> Chi)
NULL			56	2.8123	
traitement	7	0.48855	49	2.3237	0.12149
répétition	3	0.39751	46	1.9262	0.02569 *
variété	1	0.00033	45	1.9259	0.93041

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Pas d'effet traitement, pas d'effet variété, effet repetition.

GST:

variété	traitement	enzyme	répétition	activitéenzymatique
CAY:22	P+TR+S : 6	GST:42	1: 8	Min. :0.0000
MD2:20	TR : 6		2:14	1st Qu.:0.1404
	LAM : 5		3:14	Median :0.2948
	MEJA : 5		4: 6	Mean :0.2884
	P : 5			3rd Qu.:0.4116
	S : 5			Max. :0.7760
	(Other) :10			



Shapiro-Wilk normality test

```
data: data$activitéenzymatique
W = 0.9623, p-value = 0.178
```

Ne suit pas une loi normale

Kruskal-Wallis rank sum test

```
data: activitéenzymatique by traitement
Kruskal-Wallis chi-squared = 6.4818, df = 7, p-value = 0.4847
```

Médianes pas différentes selon le traitement

Kruskal-Wallis rank sum test

```
data: activitéenzymatique by variété
Kruskal-Wallis chi-squared = 15.8836, df = 1, p-value = 6.736e-05
```

Médianes différentes selon la variété

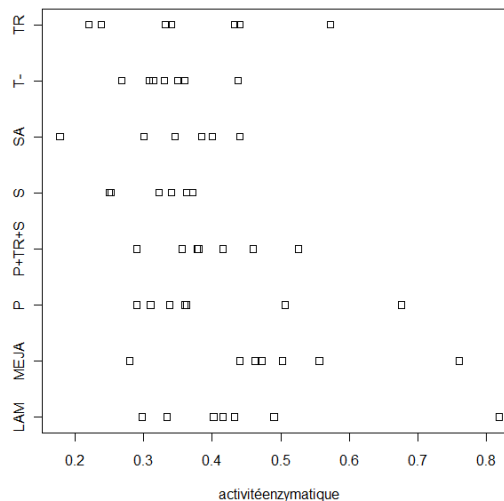
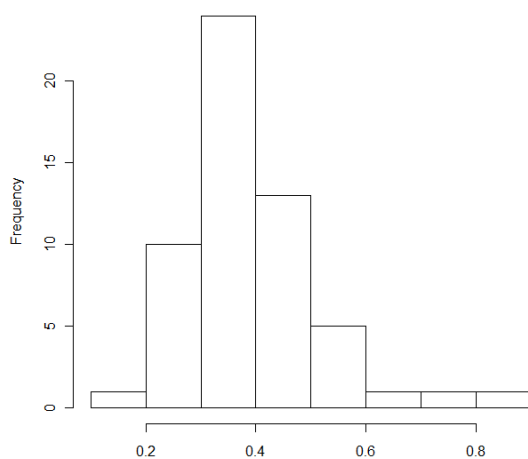
PPOX :

```

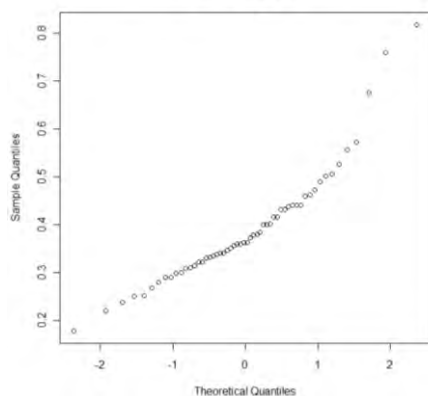
variété   traitement  enzyme   répétition  activitéenzymatique
CAY:24    LAM       : 7    PPOX:56    1: 8        Min.    :0.1780
MD2:32    MEJA      : 7        2:16       1st Qu.:0.3200
          P         : 7        3:16       Median :0.3620
          P+TR+S    : 7        4:16       Mean   :0.3914
          S         : 7                3rd Qu.:0.4400
          SA        : 7                Max.   :0.8180
          (Other):14

```

Histogram of datas\$activitéenzymatique



Normal Q-Q Plot



Shapiro-Wilk normality test

```

data:  datas$activitéenzymatique
W = 0.8988, p-value = 0.0001981

```

Suit une loi normale

```

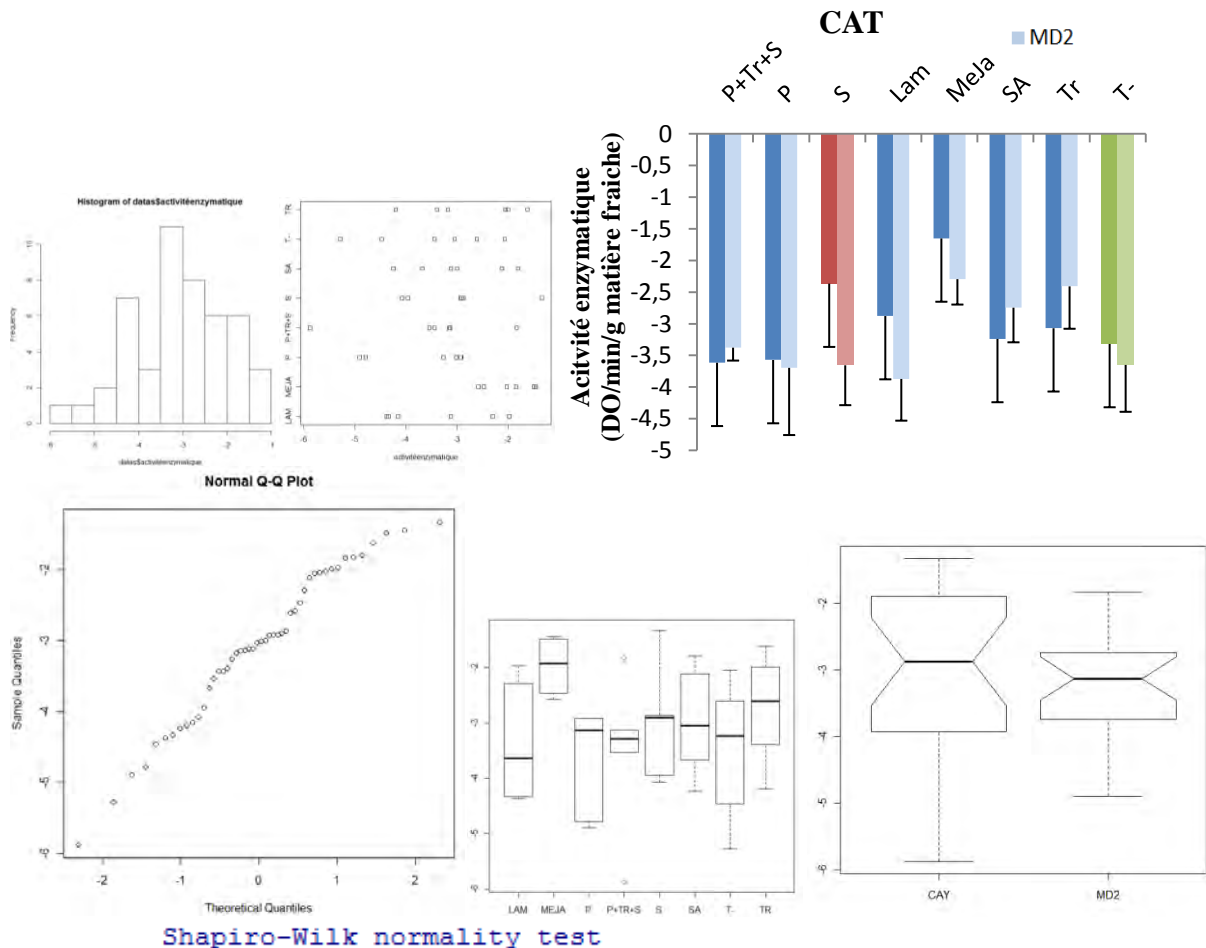
          Df Deviance Resid. Df Resid. Dev P(>|Chi|)
NULL                                55      0.80248
traitement  7 0.182028             48      0.62046  0.04373 *
répétition  3 0.028579             45      0.59188  0.51854
variété     1 0.037605             44      0.55427  0.08403 .
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Effet traitement, pas d'effet répétition, pas d'effet variété.

CAT:

variété	traitement	enzyme	répétition	activitéenzymatique
CAY:24	LAM : 6	CAT:48	2:16	Min. : -5.880
MD2:24	MEJA : 6		3:16	1st Qu.: -3.744
	P : 6		4:16	Median : -3.023
	P+TR+S : 6			Mean : -3.087
	S : 6			3rd Qu.: -2.101
	SA : 6			Max. : -1.330
	(Other) : 12			



```
data: data$activitéenzymatique
W = 0.9685, p-value = 0.2205
```

Ne suit pas une loi normale

Kruskal-Wallis rank sum test

```
data: activitéenzymatique by traitement
Kruskal-Wallis chi-squared = 11.6497, df = 7, p-value = 0.1127
```

Les médianes ne sont pas différentes selon le traitement

Kruskal-Wallis rank sum test

```
data: activitéenzymatique by variété
Kruskal-Wallis chi-squared = 1.7963, df = 1, p-value = 0.1802
```

Médianes pas différentes selon la variété

Stat nématodes banane

- *Abondance des juvéniles*

```
a=glm(juvg~répétition+traitement,family=poisson)
```

```
anova(a,test="Chisq")
```

Analysis of Deviance Table

Model: poisson, link: log

Response: juvg

Terms added sequentially (first to last)

	Df	Deviance	Resid.	Df Resid.	Dev	P(> Chi)
NULL				54	11690.4	
répétition	1	1.1		53	11689.3	0.2994
traitement	7	4631.8		46	7057.5	<2e-16 ***

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

- *Abondance des femelles*

```
b=glm(femg~répétition+traitement,family=poisson)
```

```
> anova(b,test="Chisq")
```

Analysis of Deviance Table

Model: poisson, link: log

Response: femg

Terms added sequentially (first to last)

	Df	Deviance	Resid.	Df Resid.	Dev	P(> Chi)
NULL				54	1815.1	
répétition	1	129.96		53	1685.1	< 2.2e-16 ***
traitement	7	633.87		46	1051.2	< 2.2e-16 ***

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

- *Abondance des mâles*

```
c=glm(malg~répétition+traitement,family=poisson)
```

```
anova(c,test="Chisq")
```

Analysis of Deviance Table

Model: poisson, link: log

Response: malg

Terms added sequentially (first to last)

	Df	Deviance	Resid.	Df Resid.	Dev	P(> Chi)
NULL				54	1915.2	
répétition	1	3.068		53	1912.2	0.07983
traitement	7	286.464		46	1625.7	< 2e-16 ***

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Stat nématodes ananas

- *Abondance des nématodes adultes*

a=glm(adultes~répétition+variété+traitement,family=poisson)

anova(a,test="Chisq")

Analysis of Deviance Table

Model: poisson, link: log

Response: adultes

Terms added sequentially (first to last)

	Df	Deviance	Resid.	Df Resid.	Dev	P(> Chi)
NULL				110	930.25	
répétition	1	0.505		109	929.74	0.4775
variété	1	29.274		108	900.47	6.284e-08

traitement	7	139.479		101	760.99	< 2.2e-16

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

- *Abondance des œufs*

b=glm(isra[,5]~répétition+variété+traitement,family=poisson)

anova(b,test="Chisq")

Analysis of Deviance Table

Model: poisson, link: log

Response: isra[, 5]

Terms added sequentially (first to last)

	Df	Deviance	Resid.	Df Resid.	Dev	P(> Chi)
NULL				110	1380.4	
répétition	1	3.119		109	1377.2	0.0774
variété	1	0.031		108	1377.2	0.8599
traitement	7	205.677		101	1171.5	<2e-16 ***

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

- *Abondance totale*

c=glm(total~répétition+variété+traitement,family=poisson)

anova(c,test="Chisq")

Analysis of Deviance Table

Model: poisson, link: log

Response: total

Terms added sequentially (first to last)

	Df	Deviance	Resid.	Df Resid.	Dev	P(> Chi)
NULL				110	1979.6	
répétition	1	0.80		109	1978.8	0.3710515
variété	1	14.87		108	1963.9	0.0001154

traitement	7	317.46		101	1646.5	< 2.2e-16

```
a=glm(total~répétition+prac+variété*traitement,family=poisson)
anova(a,test="Chisq")
```

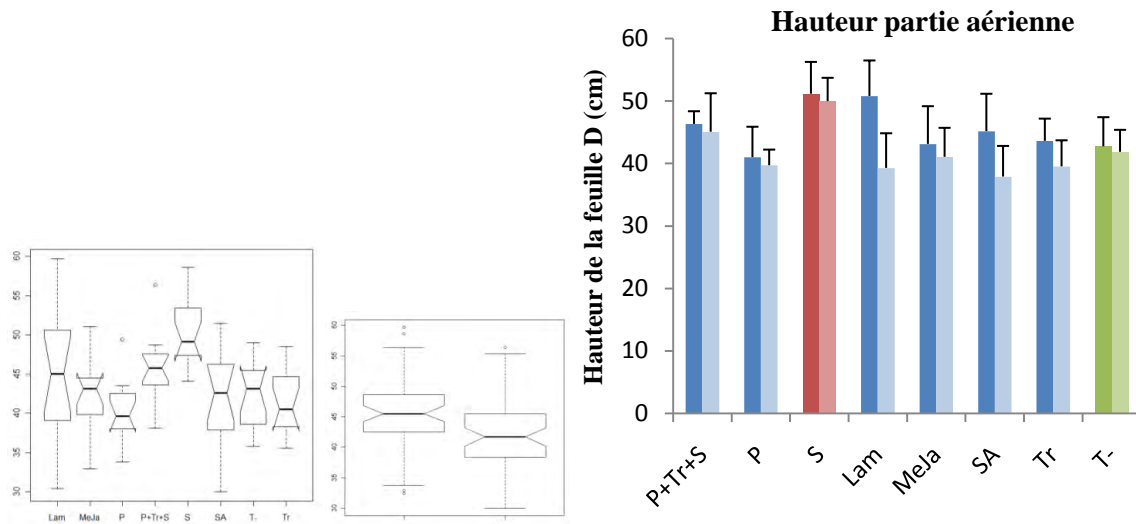
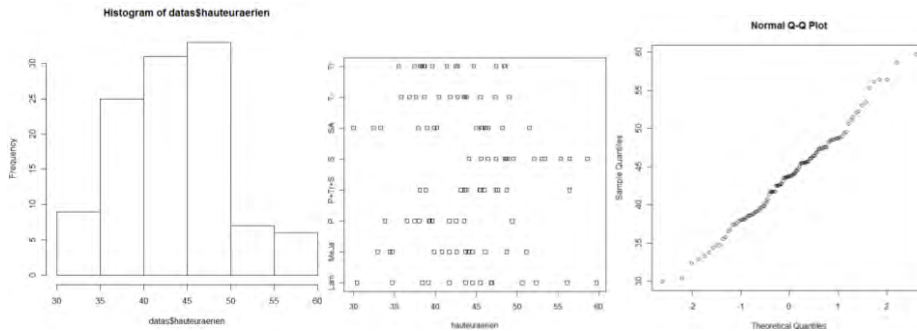
Analysis of Deviance Table
Model: poisson, link: log
Response: total
Terms added sequentially (first to last)

	Df	Deviance	Resid.	Df	Resid.	Dev	P(> Chi)
NULL				110		1979.6	
répétition	1	0.800		109		1978.8	
		0.37105					
poids rac	1	265.376		108		1713.4	< 2e-16 ***
variété	1	4.591		107		1708.8	
		0.03215 *					
traitement	7	163.374		100		1545.4	< 2e-16 ***
variété:traitement	7	190.748		93		1354.7	< 2e-16 ***

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

ananas hauteur partie aérienne :

variété	traitement	répétition	hauteuraerien
CAY:56	Lam	:14	1:16
MD2:55	MeJa	:14	2:16
	P+Tr+S	:14	3:16
	S	:14	4:16
	SA	:14	5:16
	T-	:14	6:16
	(Other)	:27	7:15



Shapiro-Wilk normality test

```
data: datas$hauteuraerien
W = 0.9902, p-value = 0.6067
```

Ne suit pas une loi normale

Kruskal-Wallis rank sum test

```
data: hauteuraerien by traitement
Kruskal-Wallis chi-squared = 31.2166, df = 7, p-value = 5.671e-05
```

Les médianes sont différentes selon le traitement

Kruskal-Wallis rank sum test

```
data: hauteuraerien by variété
Kruskal-Wallis chi-squared = 12.0709, df = 1, p-value = 0.0005122
```

Les médianes sont différentes selon la variété

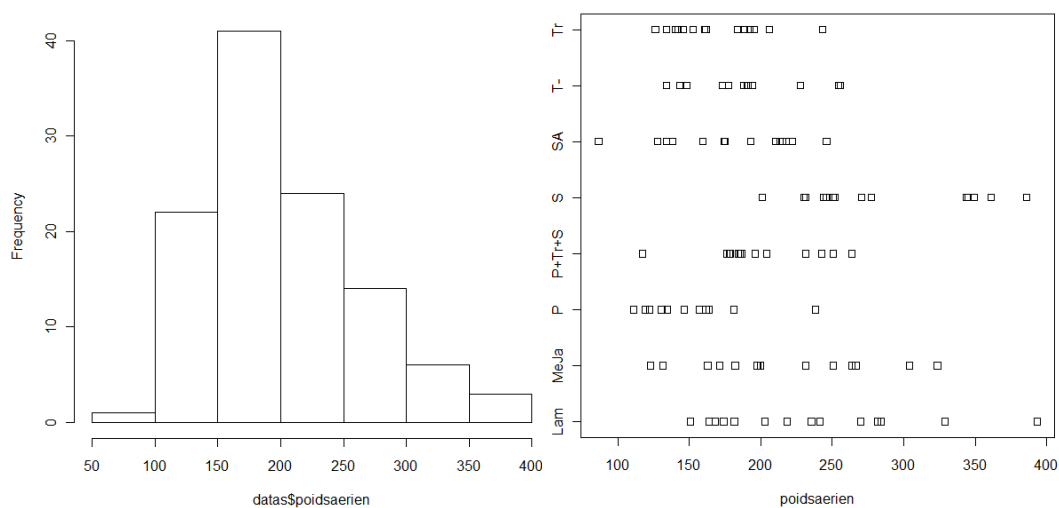
ananas poids partie aérienne :

```

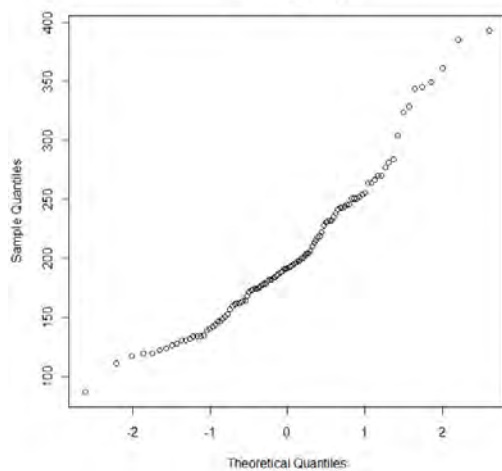
variété   traitement répétition  poidsaerien
CAY:56    Lam       :14      1:16      Min.    : 86.6
MD2:55    MeJa      :14      2:16      1st Qu.:161.1
          P+Tr+S    :14      3:16      Median :191.3
          S         :14      4:16      Mean   :203.0
          SA        :14      5:16      3rd Qu.:242.1
          T-        :14      6:16      Max.   :393.2
          (Other):27      7:15

```

Histogram of datas\$poidsaerien



Normal Q-Q Plot



Shapiro-Wilk normality test

```

data:  datas$poidsaerien
W = 0.9444, p-value = 0.0001626

```

Suit une loi normale

```

              Df Deviance Resid. Df Resid. Dev P(>|Chi|)
NULL                110      426328
traitement    7      176875      103      249453 8.336e-16 ***
répétition    6       10078       97      239375  0.557
variété       1       41841       96      197534 6.502e-06 ***
---

```

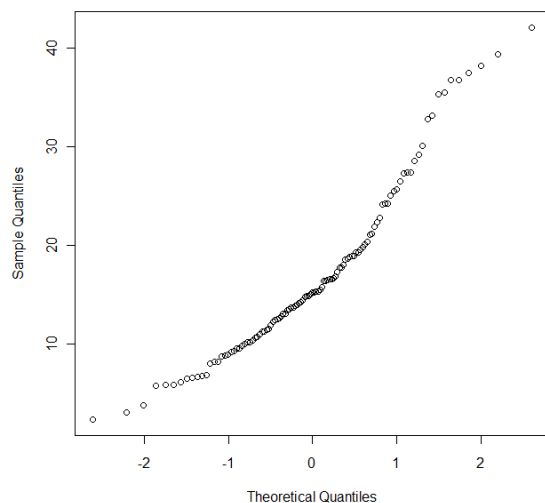
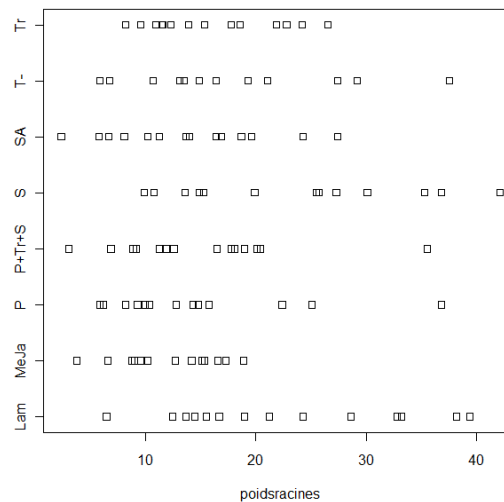
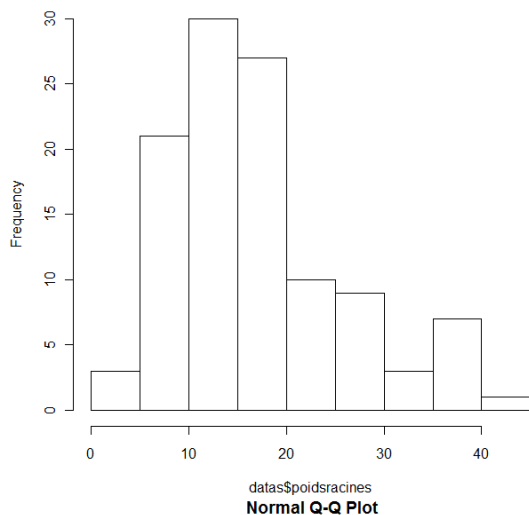
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Effet traitement, effet variété, pas d'effet répétition.

ananas poids partie racinaire :

```
variété   traitement répétition  poidsracines
CAY:56    Lam       :14      1:16      Min.    : 2.40
MD2:55    MeJa      :14      2:16      1st Qu.:10.75
          P+Tr+S    :14      3:16      Median :15.30
          S         :14      4:16      Mean   :16.99
          SA        :14      5:16      3rd Qu.:20.75
          T-        :14      6:16      Max.   :42.10
          (Other):27      7:15
```

Histogram of datas\$poidsracines



Shapiro-Wilk normality test

```
data:  datas$poidsracines
W = 0.9319, p-value = 2.599e-05
```

Suit une loi normale

```
          Df Deviance Resid. Df Resid. Dev P(>|Chi|)
NULL                110      8409.5
traitement    7      1494.57      103      6914.9 0.0003663 ***
répétition    6         96.43       97      6818.5 0.9429885
variété       1      1459.14       96      5359.4 3.18e-07 ***
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1
```

Effet traitement, effet variété, pas d'effet répétition.

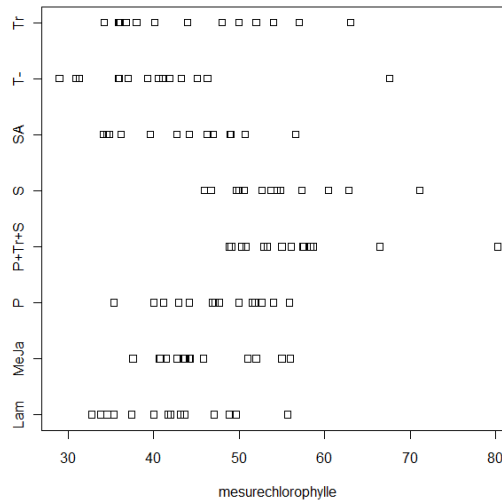
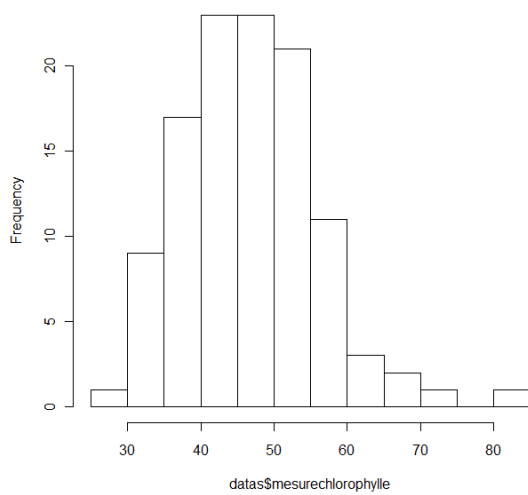
Ananas chlorophylle:

```

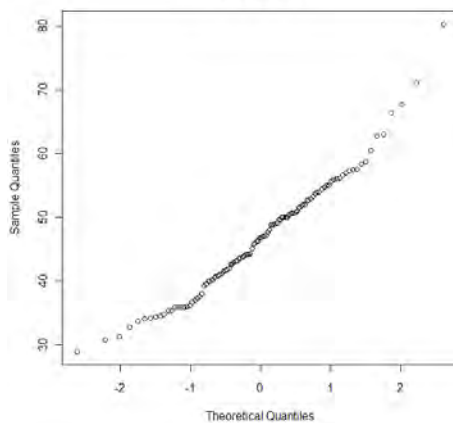
traitement variété répétition mesurechlorophylle
Lam      :14    CAY:56    1:16      Min.    :29.00
MeJa     :14    MD2:56    2:16      1st Qu.:40.48
P        :14                    3:16      Median :46.80
P+Tr+S   :14                    4:16      Mean   :46.84
S        :14                    5:16      3rd Qu.:52.70
SA       :14                    6:16      Max.   :80.20
(Other) :28                    7:16

```

Histogram of datas\$measurechlorophylle



Normal Q-Q Plot



Shapiro-Wilk normality test

```

data:  datas$measurechlorophylle
W = 0.9735, p-value = 0.02478

```

Suit une loi normale

```

              Df Deviance Resid. Df Resid. Dev P(>|Chi|)
NULL              111      9214.4
traitement      7      3303.5      104      5910.9 1.887e-10 ***
répétition      6       378.0       98      5532.9  0.3388
variété         1       148.6       97      5384.3  0.1018
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

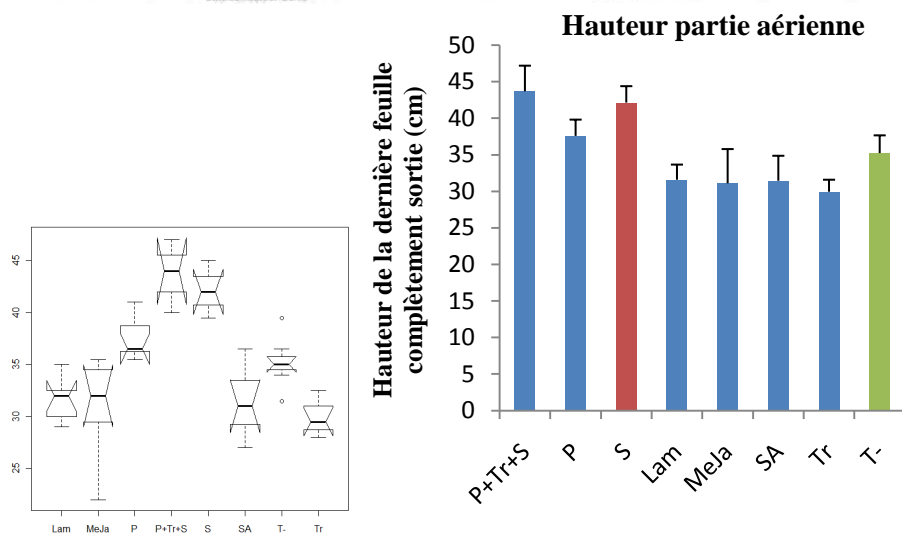
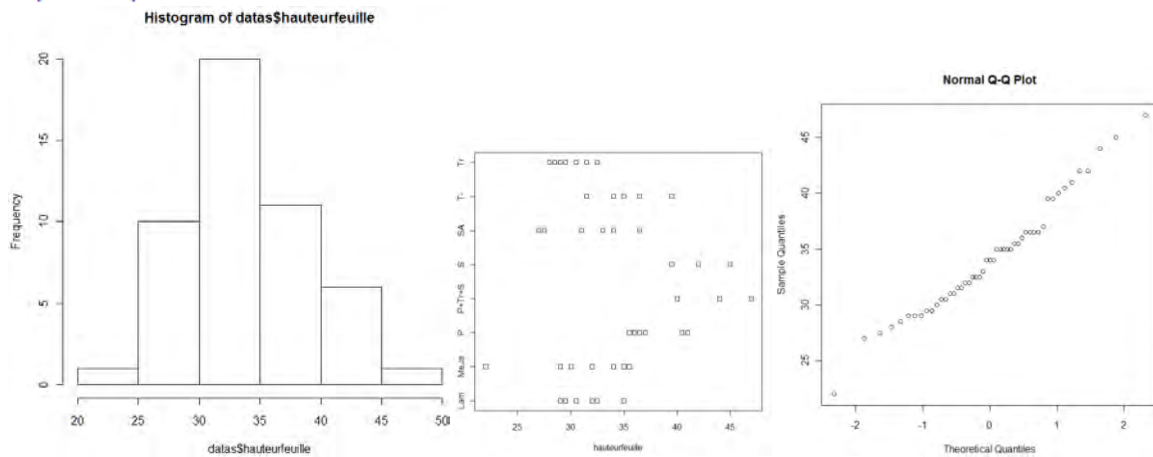
Effet traitement, pas d'effet variété, pas d'effet répétition.

stat banane hauteur

```

    traitement répétition hauteurfeuille
Lam      : 7      1:8      Min.      :22.00
MeJa     : 7      2:8      1st Qu.:30.50
P        : 7      3:8      Median   :34.00
P+Tr+S   : 7      4:8      Mean     :34.22
S        : 7      5:8      3rd Qu.:36.50
SA       : 7      6:8      Max.    :47.00
(Other) :14      7:8      NA's   : 7.00

```



```

data:  datas$hauteurfeuille
W = 0.976, p-value = 0.413

```

Ne suit pas une loi normale

Kruskal-Wallis rank sum test

```

data:  hauteurfeuille by traitement
Kruskal-Wallis chi-squared = 33.9018, df = 7, p-value = 1.797e-05

```

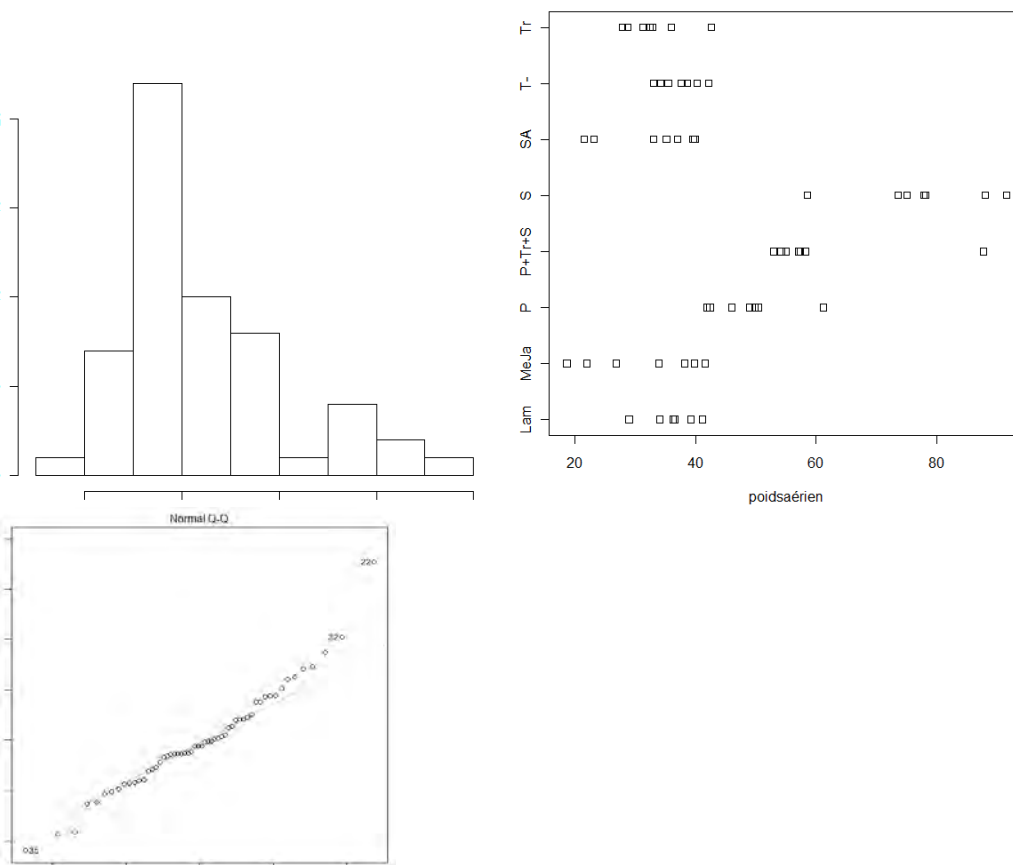
Les médianes sont différentes selon le traitement

Stat banane poids aériens

```

traitement répétition poidsaérien
Lam      : 7      1:8      Min.      :18.70
MeJa     : 7      2:8      1st Qu.:34.05
P        : 7      3:8      Median   :39.70
P+Tr+S   : 7      4:8      Mean     :44.74
S        : 7      5:8      3rd Qu.:53.23
SA       : 7      6:8      Max.    :91.50
(Other) :14      7:8

```



Shapiro-Wilk normality test

```

data:  datas$poidsaérien
W = 0.8881, p-value = 8.587e-05

```

Suit une loi normale

```

              Df Deviance Resid. Df Resid. Dev P(>|Chi|)
NULL                55      16318.2
traitement    7      13333.9      48      2984.3    <2e-16 ***
répétition    6        151.5      42      2832.8      0.8957
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

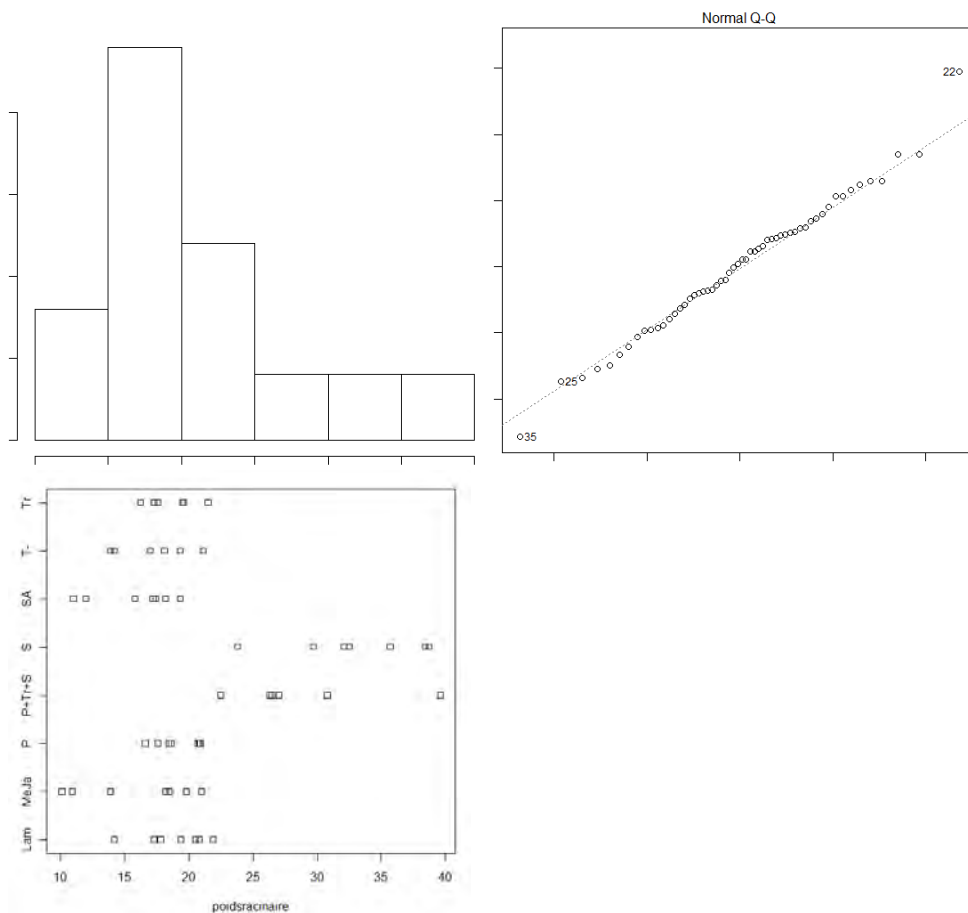
Effet traitement, pas d'effet répétition.

Banane poids racinaire

```

traitement répétition poidsracinaire
Lam      : 7    1:8      Min.      :10.10
MeJa     : 7    2:8      1st Qu.:17.30
P        : 7    3:8      Median   :19.35
P+Tr+S   : 7    4:8      Mean      :21.02
S        : 7    5:8      3rd Qu.:22.05
SA       : 7    6:8      Max.      :39.60
(Other) :14    7:8

```



Shapiro-Wilk normality test

```

data:  datas$poidsracinaire
W = 0.887, p-value = 7.878e-05

```

Suit une loi normale

```

          Df Deviance Resid. Df Resid. Dev P(>|Chi|)
NULL                                55      2644.35
traitement  7   1992.83          48       651.53   <2e-16 ***
répétition  6    36.83          42       614.70   0.8666
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

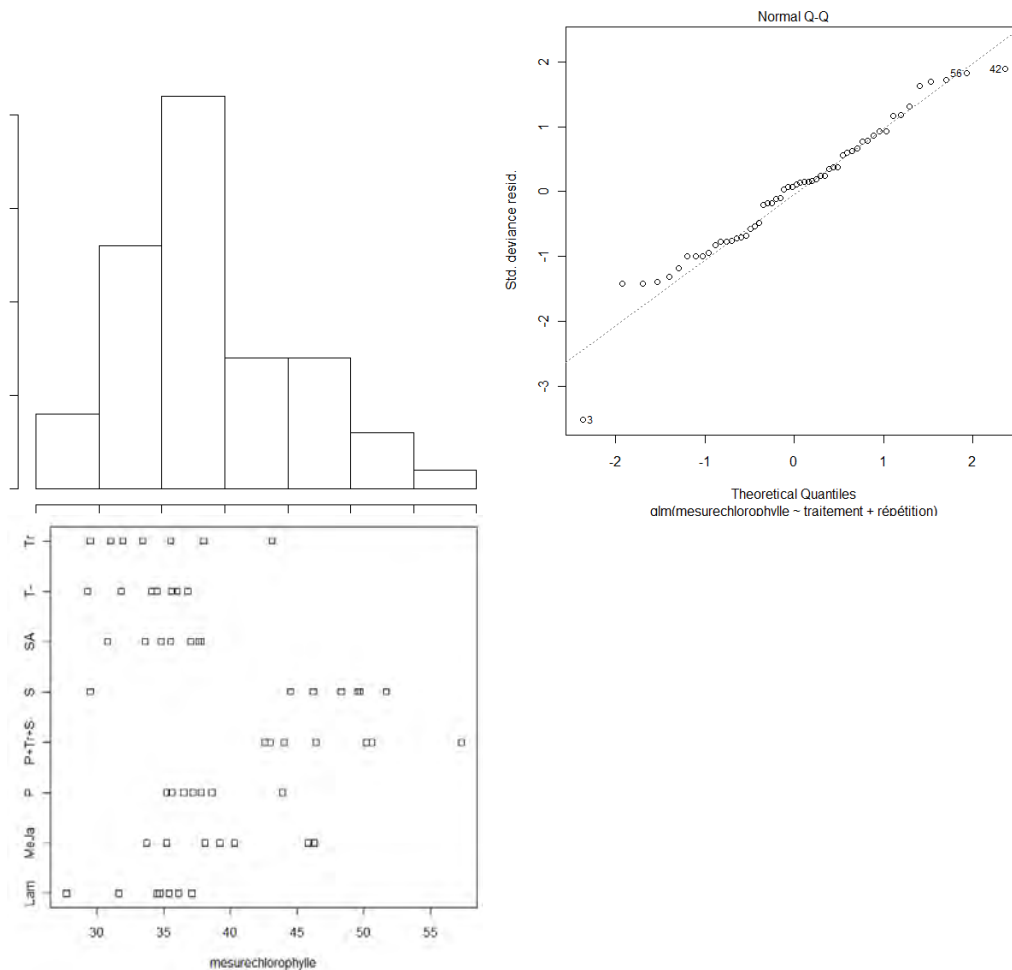
Effet traitement, pas d'effet répétition.

Stat banane chlorophylle

```

-----
  traitement variété répétition mesurechlorophylle
Lam      : 7   BAN:56   1:8      Min.      :27.7
MeJa     : 7           2:8      1st Qu.:34.5
P        : 7           3:8      Median   :36.9
P+Tr+S   : 7           4:8      Mean     :38.6
S        : 7           5:8      3rd Qu.:43.3
SA       : 7           6:8      Max.     :57.3
(Other) :14           7:8

```



Shapiro-Wilk normality test

```

data:  datas$measurechlorophylle
W = 0.9369, p-value = 0.005754

```


Suit une loi normale

```

              Df Deviance Resid. Df Resid. Dev P(>|Chi|)
NULL              55      2406.74
traitement    7   1433.72      48      973.02 2.063e-12 ***
répétition    6    103.88      42      869.14    0.5413
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Effet traitement, pas d'effet répétition.

	<p>Centre d'Angers Institut National d'Horticulture et du paysage Spécialité Horticulture option SEVE Enseignant responsable de l'option : Stéphane POUSSIER Tuteur : Philippe ROBERT</p>
Auteur(s) : Soline PICARD	Organisme d'accueil : PRAM – CIRAD Martinique Adresse : Petit Morne BP 214
Nb pages : 89 Annexe(s) : 10	97285 Le Lamentin cedex 2 Maître de stage : Marie-Noëlle Ducamp-Collin ; Alain SOLER
Année de soutenance : 2010	
Titre : Etude de l'éliciteur Stifénia® dans la résistance systémique et la lutte alternative contre <i>Pratylenchus coffeae</i> sur bananiers et <i>Rotylenchulus reniformis</i> sur ananas.	
<p>Résumé :</p> <p>Les effets de stimulation des défenses naturelles (SDN) du Stifénia® sont évalués sur la variété de bananiers 'Cavendish 902' ainsi que sur les deux variétés d'ananas 'MD2' et 'Cayenne lisse'. Dans un premier essai, les effets du Stifénia® sont observés sur bananiers cultivés en système « split root » où les racines sont séparées en deux pots distincts. Le Stifénia® est appliqué au niveau des racines du premier pot et les activités d'enzymes marqueurs de la résistance systémique sont mesurées au niveau des racines du deuxième pot non traité. Le second essai montre l'impact d'un traitement éliciteur au Stifénia® sur la diminution des populations de nématodes, ainsi que sur la croissance et la teneur en chlorophylle chez le bananier et l'ananas. Ces deux essais encouragent la poursuite des études menées sur le Stifénia® et ses effets sur la stimulation des défenses naturelles de la banane et de l'ananas dans le cadre d'une lutte alternative à l'utilisation de produits fumigants dangereux pour l'environnement.</p>	
<p>Abstract :</p> <p>Natural defense stimulation effects of Stifénia® are evaluate on the 'Cavendish 902' banana tree variety and on the 'MD2' and 'Cayenne lisse' pineapple varieties. In the first trial, the effect of Stifénia® are observed on banana trees cultivated on « split root » system where roots are separate in two distinctive pots. Stifénia® is applied into the first pot and systemic resistance marker enzymes activities are measured in the second pot non-treated roots. The second trial show the impact of a Stifénia® elicitor treatment on the nematodes population decrease, and on the growth and the chlorophyll content on banana tree and on pineapple. These two trials encourage the continuation of studies on Stifénia® and its effects on natural defense stimulation of banana and pineapple trees as an alternative of the use of fumigants products which are toxic for the environment.</p>	
<p>Mots-clés : Stifénia®, éliciteur, résistance systémique, bananier, ananas, <i>Pratylenchus coffeae</i>, <i>Rotylenchulus reniformis</i></p> <p>Key words : Stifénia®, élicitor, systemic resistance, banana tree, pineapple tree, <i>Pratylenchus coffeae</i>, <i>Rotylenchulus reniformis</i></p>	